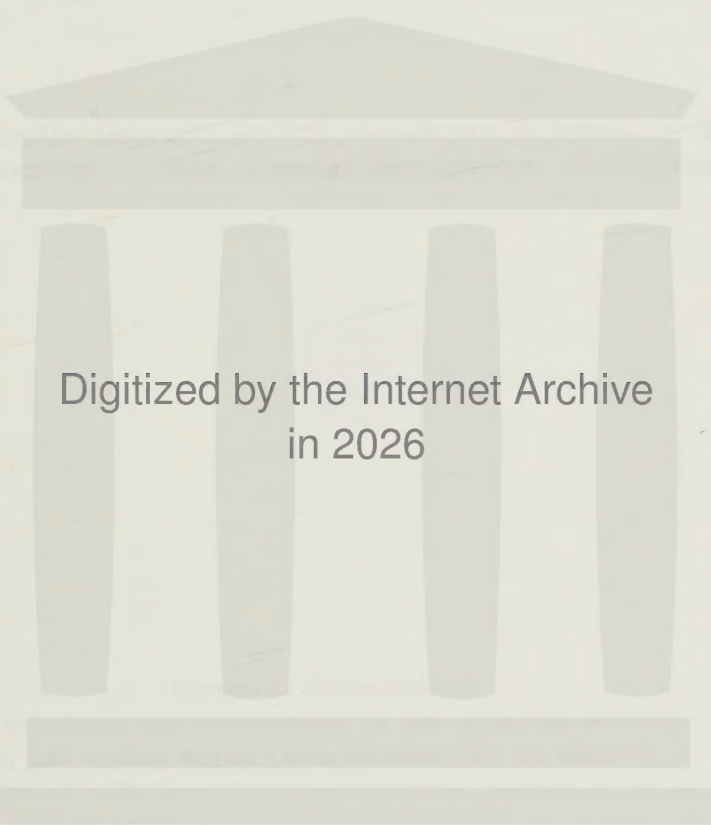


DIE ZELLULÄRE IMMUNITÄT BEI DER MYOKARDITIS IM
VERGLEICH ZU NORMALPERSONEN -
EINE LYMPHOZYTENKINETISCHE UNTERSUCHUNG

FRIEDHELM PELTZ

1985

*Diss
München*



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus der Medizinischen Klinik III
Klinikum Großhadern
Direktor: Professor Dr. W. Wilmanns

DIE ZELLULÄRE IMMUNITÄT BEI DER MYOKARDITIS IM VERGLEICH ZU
NORMALPERSONEN - EINE LYMPHOZYTENKINETISCHE UNTERSUCHUNG

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Friedhelm Peltz
aus
Germering
1985

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Universität München

Berichterstatter:	Professor Dr. W. Mempel
Mitberichterstatter:	Professor Dr. W. Wilmanns
Dekan:	Professor Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 29.04.06

MEINEN ELTERN
IN DANKBARKEIT GEWIDMET

GLIEDERUNG:

Teil I: KONVENTIONELLE MATHEMATISCHE ANALYSEN

1. Einleitung

1.1. Allgemeines

1.2. Der Lymphozyt und seine Bedeutung für die körpereigene Abwehr

1.2.1. B-Lymphozyten

1.2.2. T-Lymphozyten

1.2.2.1. T-Helferzellen

1.2.2.2. T-Killerzellen

1.2.2.3. T-Suppresorzellen

1.2.3. Nullzellen

1.3. Der Ablauf von Immunreaktionen

1.4. Ziele der Untersuchung

2. Material und Methoden

2.1. Probanden

2.1.1. Myokarditis

2.1.2. Kontrollen

2.2. Untersuchungen

2.2.1. Mitogen- und Antigenstimulationen

2.2.1.1. Mitogene

2.2.1.2. Antigene

2.2.2. Suppressorzellassay

2.2.3. T-Zellsubfraktionen

2.3. Statistische Analysen

- 3. Ergebnisteil I
- 3.1. Mitogen- und Antigenstimulationen
- 3.1.1. Mitogene
- 3.1.2. Antigene
- 3.2. Suppressorzellaktivität
- 3.3. T-Zellsubfraktionen
- 3.4. Diskussion Ergebnisteil I

Teil II: CLUSTERANALYSE

- 4. Ergebnisteil II - Clusteranalyse
- 4.1. Statistische Methoden
- 4.2. Kontrollen
- 4.2.1. Ergebnisse
- 4.2.2. Diskussion
- 4.3. Myokarditis
- 4.3.1. Ergebnisse
- 4.3.1.1. Mitogen- und Antigenstimulationen
- 4.3.1.2. Suppressorzellaktivität
- 4.3.1.3. T-Zellsubfraktionen
- 4.3.2. Diskussion
- 5. Zusammenfassende Diskussion der Ergebnisteile I
 und II
- 6. Immunogenetischer Anhang
- 7. Zusammenfassung
- 8. Literaturverzeichnis

TEIL I: KONVENTIONELLE MATHEMATISCHE ANALYSEN

1. Einleitung

1.1. Allgemeines

Was versteht man unter Immunität? Bezeichnete man früher mit Immunität einen von jeglicher Ansteckung gefeiten Organismus, so versteht man heute darunter die ständige Auseinandersetzung des Organismus mit seiner antigenen Umwelt. Der ständige Sieg über eingedrungene pathogene Mikroorganismen oder Stoffe lassen ihn die Gesundheit erhalten und das Überleben des Individuums gewährleisten. Um sich gegen seine Umwelt zu behaupten, stehen dem Körper einige Abwehrmöglichkeiten zur Verfügung, die sich in erster Linie gegen von außen eindringende antigene Stoffe richten, die aber auch als fremd erkannte körpereigene Strukturen angreifen können (96, 107).

Die Mechanismen zur Ausschaltung eingedrungener antigener Strukturen werden allgemein eingeteilt in humorale und zelluläre, spezifische und unspezifische. Eine genauere Übersicht über die einzelnen Komponenten des Immunsystems gibt Tabelle 1 (107).

	unspezifisch	spezifisch
humoral	Komplementsystem natürliche Antikörper Interferon Properdin Lysozym und andere bakterizide Stoffe	Antikörper (Immunglobuline)
zellulär	Chemotaxis Phagozytose Bakterizidie basophile Leukozyten Zytolyse mononukleäre Phagozyten	Immunkompetente T-Zellen: - Helferzellen - Suppressorzellen - zytotoxische T-Zellen

Unspezifische Abwehrmechanismen treten in der phylogenetischen Entwicklung früh auf und sind angeboren. Ergänzung finden sie bei höheren Wirbellosen und bei Wirbeltieren, vor allem bei Säugern, also auch beim Menschen, in den spezifischen Leistungen des Immunsystems. Die Spezifität äußert sich darin, daß die Immunantwort durch erworbene Abwehrvorgänge spezifisch gegen das sie induzierende Agens gerichtet ist und daß es durch seine Gedächtnisleistung bei einem erneuten Antigenkontakt mit dem gleichen Stoff mit einer vermehrten und schnelleren Produktion von Abwehrstoffen reagieren kann (38, 71, 96, 107, 187, 198).

Die aus obiger Tabelle ersichtlichen unspezifischen Immunitätsmechanismen sind angeboren und daher im Wesentlichen durch genetische Faktoren bestimmt (38, 79, 107). Deshalb bestehen in der Resistenz gegenüber pathogenen Erregern Unterschiede zwischen Spezies und Stämmen, weniger ausgeprägt zwischen den Angehörigen eines Stammes. So gibt es eine Reihe von Erregern, wie z.B. Lues, Influenza oder Diphtherie, für die der Mensch besonders empfindlich ist, die aber bei Tieren keine Krankheitserscheinungen hervorrufen (107). Als Beispiel für die unterschiedliche Resistenz bei verschiedenen Menschenrassen sei die Tuberkulose genannt, die bei Farbigen deutlich niedriger ist als bei Weißen. Weitere Unterschiede ergeben sich auf Grund des Alters, der ältere Mensch ist durch Infektionen mehr gefährdet als der junge, und von Stoffwechselstörungen, wie z.B. Diabetes mellitus oder Störungen der Nebennieren- oder Schilddrüsenfunktion. In allen genannten Fällen ist die Resistenz vermindert (47, 107).

Die Aktionsfähigkeit der unspezifischen Immunität hat aber zur Voraussetzung die abgestimmte Zusammenarbeit vieler Einzelkomponenten. Ist die Koordination des Zusammenwirkens optimal abgestimmt, so kann dies zu einem den eingedrungenen Mikroorganismus betreffenden refraktären Zustand führen; der eigentlich pathogene Erreger kann keine Krankheitssymptome auslösen. Als Beispiel sei die Rinderpest genannt (107). Die

unspezifischen Abwehrmechanismen scheinen hier zu genügen, um den Erreger zu neutralisieren und abzutöten. Die unspezifische Immunität dient bei höheren Lebewesen also als erste Abwehrfront. Oft genügen diese Abwehrmechanismen jedoch nicht, eine Infektionsmanifestation zu verhindern oder sie unter Kontrolle zu bringen. Hier greift dann das spezifische Immunsystem ein, das aber wiederum auf die Mechanismen des unspezifischen Systems, wie z.B. Komplement und Phagozyten angewiesen ist. Abschließend betrachtet muß man festhalten, daß die Majorität der vom Immunsystem erbrachten Leistungen auf enger Interaktion zwischen dem unspezifischen und spezifischen Anteil beruht (107).

1.2. Der Lymphozyt und seine Bedeutung für die Umwelt

Neben unspezifischen Abwehrmechanismen besitzt der Mensch, wie auch alle Wirbeltiere, lymphoide Zellen als funktionelle Einheit des lymphatischen Systems, dem Träger der spezifischen Abwehr (61). Diese lymphoiden Zellen sind Voraussetzung zur Entwicklung einer aktiven Immunität.

Der Anteil der Lymphozyten an den im peripheren Blut zirkulierenden Leukozyten beträgt beim gesunden Erwachsenen ca. 25 - 40 %, also 1000 - 3600 Lymphozyten/mm³. Beim Säugling ist der Anteil mit 50 - 70 % noch wesentlich höher, wobei überhaupt auch die Gesamtanzahl der im peripheren Blut vorhandenen Leukozyten erhöht ist, die erst im jugendlichen Alter von 14 Jahren normale Erwachsenenwerte erreicht. Die Menge der im Blut befindlichen Lymphozyten beträgt nur etwa 4 % aller im Gesamtorganismus vorhandenen Lymphozyten. Nur die Hälfte der Blutlymphozyten zirkuliert, während die andere Hälfte den Gefäßwänden anhaftet und den randständigen Lymphozytenpool bildet. Der weitaus größere Teil der Lymphozyten befindet sich zu 70 % in den lymphatischen Organen, wie Milz, Tonsillen, Lymphknoten usw., 10 % im Knochenmark,

wo sie auch hauptsächlich gebildet werden und zu 10 - 20 % in anderen Geweben. Obwohl der Hauptteil der Lymphozyten sich in Geweben befindet, kommt den im peripheren Blut zirkulierenden Lymphozyten eine große diagnostische Bedeutung zu (9, 61).

Lichtmikroskopisch imponieren die Lymphozyten im Blutausschlag (Panoptische Färbung nach Papenheim) (153) als mononukleäre Zellen. Sie lassen sich in unterschiedliche Gruppen einteilen, deren größte die sogenannten kleinen Lymphozyten mit einem Zelldurchmesser von ca. 10 Mikrometer bildet. Ihren homogenen und scharf begrenzten Kern, der tief dunkelblau angefärbt ist, umgibt ein schmaler mittelblauer Cytoplasmasaum. Neben den kleinen Lymphozyten gibt es noch größere mit einem Zelldurchmesser von 10 - 25 Mikrometer. Der Kern ist größer als der der kleinen Lymphozyten, auch weniger homogen und etwas eingedellt, was ihm das Aussehen einer Bohne verleiht. 10 - 20 % der Lymphozyten können im Plasma azurophile Granula aufweisen. Große Zellen sind häufiger granuliert als kleine, die großen werden auch als "Large Granular Lymphocytes" (LGL) bezeichnet. Weiterhin sind im peripheren Blut immer atypische lymphatische Zellen anzutreffen, die durch eckige zerfließende Kerne, ein sehr helles Cytoplasma und oft rötliche Granula auffallen (9, 46, 217). Bei manchen Infektionen, z.B. beim Pfeifferschen Drüsenfieber, sind diese Zellen stark vermehrt.

Hinsichtlich der Lebensdauer der Lymphozyten gibt es große Unterschiede. Drei Gruppen lassen sich unterscheiden:

1. kleine und große Lymphozyten mit einer Lebensdauer von 1 - 12 Tagen, also sehr kurzlebig,
2. kleine Lymphozyten mit einer Lebensdauer von ca. 500 Tagen
3. vor allem kleine Lymphozyten, die sogar Jahrzehnte überleben können.

Bemerken muß man noch, daß 90 % aller Lymphozyten langlebige Zellen sind (9, 61, 203).

Wie alle Blutzellen entwickeln sich auch die Lymphozyten aus den Blutstammzellen (123). In der dritten Woche der Embryonalentwicklung bilden sich in der Wand des Dottersackes Inseln von primitiven Blutzellen, die nach der Entwicklung und Ausbildung des Gefäßsystems im Körper zirkulieren. Vom achten Monat an besiedeln sie das Knochenmark. Von dort aus erreichen die immunologisch noch inkompetenten Vorläuferzellen der Lymphozyten die Orte ihrer weiteren Differenzierung (103).

Früher konnten Lymphozyten nur auf Grund morphologischer Kriterien unterschieden werden. Doch eingehende Untersuchungen über ihren differenten Aufbau und ihre verschiedenen Eigenschaften, aus denen sich auch unterschiedliches funktionelles biologisches Verhalten ableiten läßt, führte zu einer ersten großen Unterteilung der Lymphozyten, nämlich in B- und T-Lymphozyten, benannt nach ihren Prägungsorten, dem Thymus (für T) und den bursaabhängigen Organen (für B). Eine weiterführende, verfeinerte Einteilung ergibt sich dann aus den Aufgaben und Funktionen innerhalb des Immunsystems, auf die dann bei Besprechung der einzelnen Zellpopulationen eingegangen wird (81, 125).

1.2.1. B-Lymphozyten

Bei jungen Vögeln spielt die Bursa fabricii in der klonalen Reifung und Expansion der Lymphozyten eine wichtige Rolle. Die Bursa, ein lymphoepitheliales, kloakennahes Organ besteht aus einem von Lymphozyten durchsetzten verzweigten Netzwerk von Epithelzellen. Der histologische Aufbau ist damit ähnlich dem Thymus, weshalb man die Bursa auch als kloakennahen Thymus bezeichnet. Sie bildet sich mit einsetzen der Geschlechtsreife zurück (77). Die sich im

Netzwerk der Bursa befindlichen Lymphozyten werden dort geprägt und sind deshalb bursaabhängige, oder abgekürzt B-Lymphozyten. Der Mensch selbst scheint kein bursaähnliches Organ zu besitzen (98, 110, 164). Der hauptsächliche Reifungsort beim Menschen ist das Knochenmark, jedoch sind auch in der fetalen Leber ab der siebten Woche unreife B-Lymphozyten nachweisbar (72, 218).

Reife B-Lymphozyten sind lichtmikroskopisch kleine Lymphozyten, ihr Durchmesser beträgt 8 - 12 Mikrometer. Im Rasterelektronenmikroskop sind auf ihrer Oberfläche zahlreiche Mikrovilli zu erkennen (124, 163).

Die Lebensdauer der B-Lymphozyten beträgt wenige Tage bis Monate, die meisten sind jedoch kurzlebige Zellen. Bei der Untersuchung kortikaler Lymphknotenregionen wurden auch langlebige B-Zellen nachgewiesen (9, 203).

Der Anteil der B-Lymphozyten an der Gesamtlymphozytenzahl beträgt beim gesunden Menschen 22 - 26 % (9).

Zur näheren Identifizierung der B-Lymphozyten bedient man sich der von Sell und Gell bewiesenen Tatsache, daß bursageprägte Lymphozyten an ihrer Oberfläche Immunglobuline gebunden haben, die Bestandteil der Zellmembran sind und spezifisch mit fluoreszenzmarkierten Antikörpern reagieren (9, 94). Dabei stellte sich heraus, daß zwei Drittel der B-Lymphozyten Immunglobuline vom IgM-Typ und die meisten welche vom IgD-Typ tragen. B-Zellen können also Immunglobuline verschiedener Klassen in ihre Zellmembran integrieren. Außerdem wurden auf der Oberfläche dieser Zellen noch Fc- und Komplementrezeptoren nachgewiesen (5, 9, 72, 100, 210).

Die Follikel und das Mark der Lymphknoten, die Lymphfollikel und die Zonen der weißen Milzpulpa, sowie die Follikel der

Peyerschen Plaques des Dünndarms sind die Territorien, in denen sich B-Lymphozyten bevorzugt nachweisen lassen. Diese Regionen werden daher auch als thymusunabhängig bezeichnet (78, 155).

Kommen B-Lymphozyten in Kontakt mit einem Antigen, das sie durch die an ihrer Membranoberfläche befindlichen Immunglobuline spezifisch erkennen können, so proliferieren sie zu großen, teilungsfähigen Blasten, deren Plasma reichlich mit rauhem endoplasmatischem Retikulum ausgefüllt ist. Aus diesen Blasten entstehen Gedächtniszellen, auch "memory cells" genannt, und Plasmazellen, die sich im Lichtmikroskop nach Anfärbung als rundliche, etwa 9 - 12 Mikrometer große Zellen darstellen, die einen kleinen runden Kern besitzen, der typische Radspeichen- oder Wagenradstruktur zeigt. Die Plasmazellen produzieren und sezernieren Antikörper, die im Blut zirkulieren und spezifisch gegen das Antigen gerichtet sind, daß die B-Zellen zur Proliferation veranlaßt hat. Da Plasmazellen auch Fc- und Komplementrezeptoren tragen, mit denen sie Antigen-Antikörper-Komplementkomplexe binden können, könnten sie auch für den Antigentransport verantwortlich sein (19,125).

Abschließend zusammengefaßt muß man festhalten, daß die B-Lymphozyten die Träger der spezifischen humoralen Immunantwort sind (9).

1.2.2. T-Lymphozyten

Die T-Lymphozyten sind die Träger der spezifisch zellulären Immunantwort und verantwortlich für die Allergie vom verzögerten Typ, wie sie die Tuberkulinreaktion der Haut darstellt. Die T-Lymphozyten erfahren ihre Prägung im Thymus, einem Organ, das ontogenetisch aus dem Entoderm stammt und somit kein lymphatisches, sondern ein epitheliales Organ

ist. Die Vorläufer der T-Zellen siedeln sich im Thymus an und formen sich dort zu Thymozyten um. Die T-Lymphozyten besiedeln dann vom Thymus ausgehend das periphere lymphatische Gewebe, von wo aus sie dann über den ganzen Organismus streuen (152, 185).

Etwa 37 - 74 % der im Blut zirkulierenden Lymphozyten sind T-Lymphozyten. Der überwiegende Teil der T-Zellen ist klein mit einem Durchmesser von 8 - 11 Mikrometer (86). Lichtmikroskopisch erkennt man keinen Unterschied zu den B-Lymphozyten, erst elektronenoptische Verfahren mit einer wesentlich höheren Auflösung lassen eine im Gegensatz zu den B-Lymphozyten stehende glatte Oberfläche erkennen (124, 163, 196).

T-Lymphozyten sind in der Mehrzahl langlebige Zellen. Im Laufe ihres mehrjährigen Lebens wechseln sie wiederholt vom Lymph- in das Blutsystem und zurück. Die Hauptaufgabe dürfte dabei in der Kontrolle von Fremdan antigenen liegen (9, 165).

T-Zellen haben die Eigenschaft, mit unbehandelten Schafer erythrozyten Rosettenformationen zu bilden, das heißt, an eine T-Zelle lagern sich vier oder mehr Schafer erythrozyten an. Dies ist nicht Zeichen einer immunologischen Reaktion, sondern Ausdruck ihrer Membranbeschaffenheit (64).

Nach antigenem Reiz proliferieren die T-Lymphozyten zu großen, blastären Zellen, die dann Lymphokine, Stoffe mit chemotaktischer, zytotoxischer und mitogener Aktivität sezernieren. Diese potenten Substanzen lösen wohl auch die Immunantwort vom verzögerten Typ aus (37, 38, 39, 48, 228).

Die T-Zellen stellen keine Einheit dar, sondern sind eine heterogene Zellpopulation mit mehreren Untergruppen, die verschiedene Funktionen bei der Immunantwort übernehmen. Die Differenzierung der T-Zellen zu diesen Subpopulationen

scheint nach einem genetisch festgelegtem Plan zu erfolgen (29, 194).

Da die T-Lymphozyten zu den spezifischen Abwehrmechanismen gehören, verfügen sie auch über eine Gedächtnisleistung. Nach antigenem Kontakt entstehen aus den T-Lymphoblasten nicht nur immunaktive Zellen, sondern auch T-memory-Zellen, die Informationen über das die Reaktion auslösende Antigen speichern. Bei einem erneuten Kontakt kommt es zu einer schnelleren spezifischen Immunantwort, da die im Gedächtnis haften gebliebene Information sofort mit Hilfe der Lymphokine an die auch auf den Antigenkontakt hin entstanden T-Effektorzelle übertragen werden kann (10, 158).

1.2.2.1. T-Helferzellen

Die T-Helferzellen sind eine Subpopulation der T-Lymphozyten. Sie entstehen bei der Differenzierung der T-Zellen. Ihre spezifische Aktivierung erfolgt durch Antigenpräsentation durch Makrophagen (139, 223). Nach ihrer Aktivierung geben die T-Helferzellen Lymphokine ab, die einerseits Makrophagen anlocken und aktivieren, zum anderen regen sie B-Zellen zur Mitose und somit zur Proliferation zur Plasmazelle an, die dann spezifische Antikörper produziert. Dadurch haben die T-Helferzellen einen entscheidenden Anteil an der Immunreaktion gegen die meisten Antigene (74, 206, 220). Gäbe es die T-Helferzellen nicht, so würden die B-Zellen nicht zur Antikörperproduktion angeregt werden. Man nennt daher das die Immunantwort auslösenden Antigen thymusabhängig. Es gibt natürlich auch thymusunabhängige Antigene, die B-Zellen direkt aktivieren können (75, 162, 205).

Die Helferzellen beeinflussen nicht nur die humorale, sondern auch die zelluläre Abwehr, in dem sie ein potentes Mitogen, das Interleukin 2 sezernieren. Diese Substanz regt

sensibilisierte T-Lymphozyten zur Proliferation an und führt zur Entwicklung von zytotoxischen T-Killerzellen (201).

1.2.2.2. T-Killerzellen

T-Killerzellen entstehen unter Mitwirkung von T-Helferzellen, die Interleukin 2 sezernieren, aus sensibilisierten T-Lymphozyten nach erneutem Kontakt mit dem spezifischen Antigen (201). Die Zerstörung der Zielzelle oder des Antigens erfolgt mit Hilfe von Oberflächenrezeptoren. Voraussetzung dafür ist die Übereinstimmung der Killerzelle mit Epitopen des Antigens und Übereinstimmung der Histokompatibilitätsantigene von Killer- und Zielzelle, was z.B. bei von Viren befallenen körpereigenen Zellen auftritt (10).

Von B-Zellen produzierte Antikörper können die Anlagerung der T-Killerzelle an die Zielzelle ermöglichen. Dies stellt eine weitere Angriffsvariante dar (134).

Der genaue Ablauf der endgültigen Zerstörung der Zielzelle ist noch nicht eindeutig geklärt. Man nimmt jedoch an, daß ein direkter Kontakt von T-Killerzelle und antigen wirkender Zelle erforderlich ist (188).

Die Aktivität der zytotoxischen T-Zelle kann durch T-Suppressorzellen eingeschränkt oder unterdrückt werden (28, 38).

1.2.2.3. T-Suppressorzellen

Suppressorzellen sind an der Regulation von humoralen und zellulären Immunreaktionen beteiligt. Sie kontrollieren wahrscheinlich über Lymphokine die anderen T-Zellsubpopulationen und die B-Zellen und somit deren Antikörperproduk-

tion. Weiter nimmt man an, daß sie auch Einfluß auf die Makrophagenaktivität besitzen (171). Die Suppressorzellen besitzen Histaminrezeptoren, die man auch bei den T-Killerzellen, jedoch nicht bei den T-Helferzellen antrifft (59, 192).

Suppressorzellaktivität ist in vitro meßbar, da sie durch Stimulation von T-Lymphozyten mit Mitogenen induziert werden kann (49, 170, 171, 211).

Hält man sich vor Augen, daß die Suppressorzelle durch ihre Funktion alle anderen Lymphozyten in ihrer Aktivität kontrolliert und beeinflußt, so muß sie bei einer angemessenen spezifischen Immunantwort eine zentrale Rolle spielen.

1.2.3. Nullzellen

Zu den Nullzellen zählt man die nicht spezifischen natural killer oder NK-Zellen und die Killer- oder K-Zellen. Sie besitzen keine für T- oder B-Zellen typische Oberflächenmarker und werden deshalb als Nullzellen bezeichnet. Morphologisch und funktionell gehören sie jedoch zu den Lymphozyten (9, 32, 83, 108, 226).

K-Zellen sind die Mediatoren der unspezifischen antikörperabhängigen zellvermittelten Zytotoxizität. Sie tragen Fc-Rezeptoren auf der Zelloberfläche, mit denen sie die Antikörper auf der Zielzelle erkennen. Die Zytolyse ist also antikörpervermittelt. Das setzt zum einen die Antikörperproduktion durch B-Zellen und zum anderen die Reaktion der Zielzelle mit dem Antikörper voraus (141, 208).

NK-Zellen können unspezifisch körperfremde Zellen direkt angreifen und lysieren. Dies gilt sowohl für Tumorzellen wie auch für virusinfizierte Zellen (127, 158, 160). Die NK-

Aktivität zeigt in vitro eine starke Korrelation zur Zahl der vorhandenen LGLs (Large Granular Lymphocytes) (180,214).

Der Unterschied zu den zytotoxischen T-Zellen besteht darin, daß die K- und NK-Zellen kein immunologisches Gedächtnis besitzen.

1.3. Der Ablauf von Immunreaktionen

Voraussetzung für den adäquaten Ablauf einer Immunreaktion gegen einen immunologischen Fremdstoff ist das Zusammenwirken von unspezifischen und spezifischen, humoralen und zellulären Elementen.

Eine Immunreaktion läßt sich einteilen in eine afferente Phase, eine Phase der zentralen Verarbeitung und in eine efferente Phase. Die afferente Phase umfaßt das Erkennen der Fremdstruktur und die ihr folgende Stimulation der Lymphozyten. In den Organismus eindringende Fremdstoffe gelangen üblicherweise in die lokalen oder regionalen lymphatischen Organe, Lymphknoten, Tonsillen, Peyersche Plaques bzw. Appendix oder sie werden in den Sinusoiden oder im retikuloendothelialen System der Leber abgefangen. Die Organe sind durch ihren Aufbau besonders geeignet einen engen Kontakt zwischen Immunsystem und Antigen herzustellen. Hier werden die antigenen Fremdzellen entweder direkt nach Vorschädigung durch unspezifische humorale Faktoren wie Komplement, Properdin und Lysozym oder durch die unspezifischen zellulären Komponenten des Immunsystems wie Granulozyten, Mikro- und Makrophagen, die durch Phagozytose und Zerstörung die antigenen Strukturen der Fremdstoffe modifizieren, mit immunkompetenten Lymphozyten konfrontiert. Außerdem nimmt man an, daß Spaltprodukte bestimmter Komplementfaktoren einen chemotaktischen Reiz auf Granulozyten ausüben, sowie die Ausschüttung lysosomaler

Granulozytenenzyme und die Degranulation von Basophilen und Mastzellen fördern. Weiterhin sollen sie die Phagozytosefähigkeit von Makrophagen, die von Monozyten abstammen, steigern. Ausgangspunkt für die humorale Immunantwort ist regelmäßig ein peripheres lymphatisches Organ, während die zelluläre Immunantwort auch außerhalb lymphatischer Organe, also prinzipiell im ganzen Organismus durch zirkulierende T-Lymphozyten ausgelöst werden kann. (1, 9, 58, 71, 96, 107, 146, 151, 176, 177, 187, 212, 224, 229).

Auf die erste Stufe der Immunreaktion folgt die zweite der zentralen Verarbeitung. Spezifische und unspezifische zelluläre Elemente des Immunsystems treten in enge Wechselbeziehung. Die wenigen immunkompetenten Lymphozyten, die das entsprechende Paratop auf ihrer Oberfläche tragen, um mit den epitopen Bezirken des Antigenmoleküls in Kontakt zu treten, setzen Mediatoren, die Lymphokine frei, die ihrerseits weiter Makrophagen und Granulozyten durch chemotaktischen Reiz anlocken und aktivieren. Dadurch wird die Phagozytosefähigkeit erhöht und dadurch wiederum die Antigene in vermehrter erkennbarer Form den Lymphozyten präsentiert. Andererseits werden durch die freigesetzten Mediatorsubstanzen weitere Lymphozyten angelockt, sodaß sich die Zahl der Zellen, die auf das Antigen anspricht erhöht (9, 37, 40, 48, 71, 146, 175, 187, 212, 228). Die Interaktion zwischen antigenem Epitop und lymphozellulärem Paratop führt außerdem zur Blastentransformation und zur Teilung der B- und T-Zellen. Folge ist die Entstehung vieler Tochterzellen, die auch mit dem Antigenmolekül reagieren können. Der antigene Reiz kann auch die Differenzierung zur Plasmazelle auslösen, die dann spezifische, gegen das Epitop gerichtete Antikörper produziert. Bei den T-Lymphozyten entstehen Subpopulationen mit unterschiedlichen Funktionen (107).

Die humorale und zelluläre Immunantwort erscheint jedoch

nicht immer gleich. Bei Präsentation sogenannter thymusunabhängiger Antigene, die nur einen kleinen Teil ausmachen, kommt es wahrscheinlich nur zu einer B-zellulären, humoralen spezifischen Immunantwort (75, 162, 209). Werden im Gegensatz dazu thymusabhängige Antigene präsentiert, differenzieren sich T-Zellen zu T-Helferzellen, die dann B-Zellen zur Proliferation anregen, aus denen dann die Plasmazellen hervorgehen, die ausschließlich spezifische, gegen das die Immunreaktion auslösende Antigen gerichtete Antikörper produzieren. Man kann annehmen, daß zwischen den B- und T-Zellen, bzw. zwischen ihren Subpopulationen ein direktes Kommunikationssystem besteht, dessen Informationsüberträger wiederum von den Zellen produzierte Mediatorsubstanzen sind. Durch all diese Vorgänge ist eine enge, fein aufeinander abgestimmte Kooperation möglich (10, 40, 71, 186, 187, 201, 205).

Antigensensibilisierte T-Killerzellen, deren Proliferation durch Interleukin-2-produzierende T-Helferzellen ausgelöst wird, können ihre Zielzellen im direkten Angriff oder durch B-zelluläre Antikörper vermittelt schädigen und vernichten (134, 201). Die aus stimulierten T-Helferzellen freigesetzten Lymphokine können auch Makrophagen aktivieren und ihren Einsatz somit kontrollieren und steuern. Während dieser Periode der Aktivierung besitzen die Makrophagen die Fähigkeit, andere Zellen zu zerstören. Dieser zytolytische Effekt kann sich auch gegen körpereigene Strukturen richten, was bei der Vernichtung von Tumorzellen von Wichtigkeit sein kann. Die Hauptleistung der Makrophagen ist jedoch die Phagozytose im Rahmen unspezifischer Immunreaktionen (121, 146, 175, 187, 201, 207).

Träger einer unspezifischen zytotoxischen Immunabwehr sind die den Nullzellen zuzurechnenden K- und NK-Zellen. Während die Nk-Zellen ihre Zielzellen direkt angreifen, reagieren die K-Zellen antikörpervermittelt (91, 158, 160).

Über all den bisher beschriebenen Vorgängen stehen jedoch die Suppressorzellen, die regulierend in alle Phasen der Immunantwort eingreifen: Durch sie ist eine adäquate, zeitlich und örtlich kontrollierte Immunantwort erst möglich. DerSuppressionsgrad kann jedoch auch so hoch sein, daß immunologische Reaktionen ganz abgeschaltet werden (65, 76, 88, 127, 139, 156, 172).

1.4. Ziele der Untersuchung

Hält man sich all diese komplexen und komplizierten Funktionsabläufe im Rahmen einer Immunantwort vor Augen, so kann man sich leicht vorstellen, daß bei Aussetzen eines Rädchens in diesem großen Werk Störungen auftreten, die Ursache verschiedener Erkrankungen sein können.

Die Myokarditis ist seit ihrer Einführung als Begriff in die Medizin in manchen Fällen eine der am schwierigsten zu diagnostizierenden Krankheiten (119, 128, 200). Hinsichtlich ihrer Pathogenese ist auch noch vieles im unklaren. Nachgewiesen wurde bisher nur eine erniedrigte Suppressorzellaktivität, wie sie auch bei der dilatativen Kardiomyopathie beobachtet wurde, die als Vor- oder Frühstadium der Myokarditis betrachtet wird (53).

Ziel der vorliegenden Untersuchung war es daher, die zelluläre Immunität bei der Myokarditis im Vergleich zu Normalpersonen unter Beachtung folgender Fragen zu beurteilen.

1. Lassen sich neben der erniedrigten Suppressorzellaktivität auch weitere bei anderen Krankheiten verändert auftretende immunologische Parameter finden ? (21, 22, 25, 50, 89, 90, 178) Bestehen immunfunktionelle Reaktions-

muster in vitro ?

2. Kann man sich die Pathogenese der Myokarditis durch derartige Befunde besser erklären ?
3. Zeigen auch gesunde Menschen aus dem Normalprobandenkollektiv analoge immunologische Verhaltensmuster ? Bilden diese Gesunden eine Risikogruppe für die Myokarditis ?
4. Eignen sich unsere Testsysteme zur Erleichterung der Diagnose der Myokarditis ?
5. Ergeben sich aus den Ergebnissen der Untersuchung Ansätze oder Richtlinien für eine Therapie der Myokarditis ?

Um diese Fragen zu klären, führten wir bei Patienten mit Myokarditis und im Vergleich dazu bei Normalpersonen verschiedene immunologische In-vitro-Untersuchungen durch.

2. Material und Methoden:

2.1. Probanden:

2.1.1. Myokarditis:

Die Myokarditis ist eine häufige Erkrankung. Hinsichtlich ihrer Diagnose stellt sie immer wieder ein Problem dar (119, 128). An Myokarditis erkrankte Personen gaben als Symptome Dyspnoe, Herzklopfen, Herzz stolpern, abdominale und präkordiale Schmerzen, sowie manchmal das Auftreten von Ödemen an. Dies alles sind Zeichen einer Herzinsuffizienz. Bei etwa der Hälfte der Patienten findet man in der Anamnese einen vorausgegangenen Virusinfekt, der sich durch entsprechende Titer komplementbindender Antikörper, vor allem gegen Coxsackie-B-Viren, nachweisen läßt. Häufig findet man einen dritten Herzton sowie ein holosystolisches Geräusch über dem Mitralareal. Im Elektrokardiogramm können Erregungsbildungs- und Erregungsleitungsstörungen vielfältiger Art auftreten. Röntgenologisch imponieren oft Zeichen einer Kardiomegalie und Lungenstauung. Sowohl echokardiographisch wie auch bei der Herzkatheteruntersuchung sind eine Zunahme des linksventrikulären Durchmessers und Störungen der linksventrikulären Funktion erkennbar (63, 112). Bei der invasiven Herzkatheteruntersuchung wurden nicht nur die hämodynamischen Parameter erfaßt (siehe Tab.2, S.20), sondern aus dem septalen Anteil des rechten Ventrikels gewann man Myokardbiopsien, die zur Befundung in das Pathologische Institut der Universität München zu Prof. Hübner und in das National Heart and Chest Hospital, London, zu Dr. Olson geschickt wurden (147, 154, 169, 173). Nur wenn beide Wissenschaftler die Biopsien als mit Myokarditis vereinbar befundeten, wurden sie als positiv gewertet.

Histopathologisch findet man bei der Myokarditis in der akuten Phase ein erweitertes Interstitium mit Entzündungs-

Tabelle 2: Häodynamische Parameter im linken Ventrikel bei Myokarditis

	AF (%)	EDV (ml)	EDVI (ml/m ²)	LVEDP (mm Hg)	HI (l/min/m ²)
$\bar{x}$	0.54	175	94	16	2.5
SD	0.18	97	53	9	0.6

Diese häodynamischen Parameter sind Ausdruck einer eingeschränkten linksventrikulären Funktion bei der Myokarditis.

Abkürzungen: $\bar{x}$ = Mittelwert; SD = Standardabweichung; AF = Auswurf fraktion; EDV = enddiastolisches Volumen; EDVI = enddiastolischer Volumenindex; LVEDP = enddiastolischer Druck im linken Ventrikel; HI = Herzindex.

zellen, die in engem Kontakt zu Myokardfasern stehen. In der Abheilungsphase sind Kollagenfasern nachweisbar, die auch schon in der akuten Phase auftreten können. Nach wie vor sieht man Entzündungszellen. Nach Abheilung der Myokarditis ist das Bindegewebe vermehrt und die Muskulatur regional mit Kollagenfasern durchbaut. Nur die Hälfte der Patienten mit den klinischen Symptomen einer Myokarditis zeigt derartige histopathologische Veränderungen (150).

Wir untersuchten in Zusammenarbeit mit Professor Bolte von der Medizinischen Klinik I, Klinikum Großhadern der Universität München, 44 Patienten mit klinisch gesicherter Myokarditis, 29 Männer und 15 Frauen im Alter von 22 bis 64 Jahren ($\bar{x}$ = 44 Jahre; SD = 9 Jahre). Alle Patienten wurden wie

beschrieben untersucht. 37 Patienten hatten eine mit Myokarditis vereinbare Myokardbiopsie, die verbleibenden 7 einen relevanten Cocksackie-B-Virustiter mit positiver Infektanamnese.

2.1.2. Kontrollen:

Die Kontrollgruppe bestand aus 88 zum Zeitpunkt der Untersuchung gesunden Probanden, 32 Männern und 56 Frauen im Alter zwischen 17 und 57 Jahren ($\bar{x}$ = 31 Jahre; SD = 9 Jahre).

2.2. Untersuchungen:

Aus frischem, heparinisiertem Vollblut der Probanden wurden durch Dichtegradientenzentrifugation mit Ficoll-Isopaque ($d = 1.077$, Pharmacia Fine Chemicals, Uppsala, Schweden) mononukleäre Zellen gewonnen, in phosphatgepufferter Kochsalzlösung (pH 7.2.) gewaschen und in RPMI 1640-Kulturmedium mit Hepespuffer, dem 1 % Penicillin-Streptomycin, 1 % L-Glutamin (Gibco Europe, Glasgow, Schottland) und 20 % humanes AB-Serum (BSD/BRK, München) zugesetzt war, aufgeschwemmt. Bei allen Probanden lag das Zahlenverhältnis von Lymphozyten zu Monozyten in der Zellsuspension bei 4 : 1. Die nachfolgend beschriebenen Untersuchungen zur Mitogen- und Antigenstimulation wurden in einem Mikrotiterplattenassay durchgeführt (53,55).

2.2.1. Mitogen- und Antigenstimulation:

2.2.1.1. Mitogene:

Als Mitogene werden Substanzen meist pflanzlicher Herkunft bezeichnet, die Lymphozyten zur Transformation anregen können (26). Durch Mitogene werden mehr oder weniger spezi-

fische immunologische Reaktionen in vitro ausgelöst. Die so gewonnenen Erkenntnisse sind sicher nicht ohne weiteres auf die Verhältnisse im Organismus übertragbar, doch dürften solche Versuche als Modell für die Reaktivität des Immunsystems in vivo durchaus brauchbar sein (23).

Hungerford und Nowell beschrieben 1959 erstmals die mitogene Eigenschaft des Phytohämagglutinins (PHA), eines Mukoproteins aus der roten Nierenbohne (*Phaseolus vulgaris*) (97). PHA stimuliert die DNS-Synthese und die mitotische Aktivität menschlicher T-Lymphozyten, nicht jedoch die von B-Zellen, obwohl diese ebenfalls PHA an ihrer Oberfläche binden können (50, 73, 82, 148, 222, 227).

Dagegen stimuliert Pokeweed Mitogen (PWM), ein Extrakt aus der Kermesbeere, vorzugsweise B-Lymphozyten und regt sie zur Synthese von Immunglobulinen an. Auch T-Zellen werden durch PWM angeregt. Von ihnen freigesetzte Lymphokine fördern wiederum die Proliferation von B-Lymphozyten (73, 82, 161, 222).

Concanavalin A (Con A), ein kohlenhydratfreies Lectin der Schwertbohne (*Canavalia ensiformis*) stimuliert in löslicher Form nur menschliche T-Lymphozyten. Von diesen angeregten Zellen freigesetzte Mediatorssubstanzen können zur Mitreaktionen von B-Lymphozyten führen (3, 49, 159, 222, 227). Außerdem wurde die Induktion von Suppressorzellen in vitro durch Con A beobachtet (140, 156, 171, 172, 193).

Die Zellwand der meisten Stämme von *Staphylococcus aureus* enthält ein Protein, das in Agargel mit menschlichen Gammaglobulinen präzipitiert (66, 99). Dieses sogenannte Staphylokokkenprotein A (SpA) ist ein potentes B-Zellmitogen (66, 141, 142).

Von jedem Probanden wurden je 10^5 Lymphozyten in Mikrotiter-

platten (Greiner, Nürtingen) in 200 µl Medium gegen folgende Mengen der obengenannten Mitogene exponiert: 12.5 µg Protein A (Pharmacia Fine Chemicals, Uppsala, Schweden), 12.5 µg und 25 µg Concanavalin A (Sigma Chemie, München), 2.5 µg Pokeweed Mitogen und 1 µg Phytohämagglutinin (Gibco Europe, Glasgow, Schottland). Die Mitogenkulturen wurden drei Tage bei 37°C Celsius im Brutschrank in einer feuchten Atmosphäre mit 5 % CO₂ inkubiert. Alle Ansätze wurden sechsfach durchgeführt. Der Einbau von H³-Thymidin (Amersham International, Amersham, England) in die Lymphoblasten-DNS wurde mittels Flüssigszintillation unter Verwendung einer 6 g PPO und 10 mg POPOP auf 1 Liter Toluol enthaltene Szintillationsflüssigkeit (Carl Roth, Karlsruhe) gemessen (57).

2.2.1.2. Antigene:

Analoge Stimulationsversuche führten wir mit einer Reihe bakterieller und viraler Antigene durch.

Varidase ist ein Gemisch aus den extrazellulären Streptokokkenproteinen Streptokinase und Streptodornase, wobei das eigentliche lymphozytenstimulierende Antigen vermutlich ein Betaglobulin mit einem Molekulargewicht von etwa 21500 Dalton ist. Varidase ist ein guter Lymphozytenstimulator in vitro. Die Stärke der lymphozytären Reaktion ist möglicherweise HLA-assoziiert und zeigt eine gute Korrelation zur Stärke der Hautreaktion vom verzögerten Typ auf das gleiche Antigen. Es gibt offenbar unter gesunden Probanden Gruppen mit unterschiedlicher Reaktivität auf Varidase (84, 157, 211).

Tetanustoxoid, das im Tetanusadsorbatimpfstoff Tetanol^R (Behring, Marburg) als an Aluminiumhydroxid adsorbiertes, gereinigtes Tetanusformoltoxoid vorliegt, ist ein entgiftetes Ektotoxin von Clostridium tetani. Es stimuliert T-Lymphozyten immunisierter Individuen in Gegenwart von Makropha-

gen, wobei die Reaktion HLA-abhängig zu sein scheint und sich in vitro unter Gesunden zwei Gruppen mit differenter Reaktivität unterscheiden lassen, eine kleine Hochreagentengruppe und eine große Gruppe von Niedrigreagenten (24, 182).

Diphtherietoxoid, das entgiftete Ektotoxin von *Corynebacterium diphtheriae*, ein komplexes Protein, das in handelsüblicher Form als Aluminumformoltoxoid vorliegt, stimuliert T-Lymphozyten vorimmunisierter und nicht immunisierter Probanden gleichermaßen. Im immunisierten Kollektiv können wiederum Hoch- und Niedrigreagenten unterschieden werden (132).

Das Protein Tuberkulin, das durch fraktionierte Fällung aus Kulturfiltraten von *Mycobacterium tuberculosis* (typus humanus) gewonnen wird, bringt in vitro T-Lymphozyten zur Proliferation, wobei Probanden mit positivem Hauttest stärker reagieren als tuberkulinnegative Personen. Menschliche B-Lymphozyten werden durch Tuberkulin nicht stimuliert (60). Die T-Zellproliferation scheint von der Antigenpräsentation durch Makrophagen abhängig zu sein und einer HLA-Restriktion zu unterliegen (15, 215).

Vacciniaantigen, das Antigen des im Pockenimpfstoff enthaltenen, abgeschwächten Kuhpockenvirus, das hinsichtlich seiner antigenen Eigenschaften weitgehend mit dem Pockenvirus identisch ist, stimuliert in vitro ebenfalls Lymphozyten, vor allem T-Killerzellen. Auch in diesem Fall scheint die Stärke der Reaktion HLA-assoziiert zu sein (14, 41, 87, 118, 149).

Masernantigen, das aus Masernvirus gewonnen wird und Komplement binden kann, stimuliert in vitro konzentrationsabhängig T-Lymphozyten, wie überhaupt die Immunreaktion gegen das Masernvirus T-lymphozytenabhängig ist. Die meisten T-Lympho-

zyten besitzen Oberflächenrezeptoren für dieses Virus (80, 179, 219, 235).

Vom komplementbindendem Rötelnantigen werden ebenfalls hauptsächlich T-Zellen zur Proliferation gebracht. Unmittelbar nach einer Impfung mit Rötelnimpfstoff lassen sich unter den Probanden Hoch- und Niedrigreagenten unterscheiden, wobei die Stärke der Reaktion proportional zum Antikörpertiter im Serum ist (102, 197).

Der Antigencocktail der Behringwerke setzt sich zusammen aus Streptolysin O, Tuberkulin GT, Tetanustoxoid, Mumpsantigen und Vacciniaantigen. Er stimuliert sowohl T- als auch B-Lymphozyten, wobei der H^3 -Thymidineinbau in die Lymphoblasten DNS in der Regel höher ist als in den übrigen Antigen-systemen.

Die Antigenstimulationsversuche wurden, mit Ausnahme der Inkubationszeit von 6 Tagen gegenüber 3 Tagen bei der Mitogenstimulation, in gleicher Weise wie dort beschrieben mit folgenden Endverdünnungen der Antigenstammlösungen durchgeführt:

2 μ l Varidase (Lederle, Wolfratshausen), 2.5 μ l Tetanustoxoid, 2.5 μ l Diphtherietoxoid, 1 μ l Tuberkulin GT 1, 0.5 μ l Tuberkulin GT 10, 0.5 μ l Masernantigen, 0.5 μ l Vacciniaantigen, 16 μ l Rötelnantigen und 2.75 μ l Antigencocktail (Op 13) (Behring, Hamburg).

Antigenstimulation von Lymphozyten in vitro dürfte ein mindestens ebenso gutes Modell immunologischer Reaktionen in vivo sein wie die Mitogenkultur, da Antigene zu einer spezifischeren Stimulation von Lymphozyten führen als Mitogene. Es finden sich auch immer wieder Beziehungen zwischen Lymphozytenreaktivität in vitro und Antikörpertitern sowie Hautreaktionen bei untersuchten Probanden, was als Hinweis auf die biologische Relevanz dieser Testsysteme gewertet werden darf.

2.2.2. Suppressorzellassay:

Zur Induktion von Suppressorzellaktivität wurde zu Lymphozytensuspensionen 10×10^6 Zellen in 2.5 ml Kulturmedium Concanavalin A (Sigma Chemie, München) bis zu einer Endkonzentration von 60 $\mu\text{g/ml}$ gegeben und anschließend diese Zellsuspension für 48 Stunden bei 37°C Celsius in einer feuchten CO₂-Atmosphäre inkubiert (68, 193). Bystanderzellen wurden, abgesehen von der Con A-Zugabe, analog behandelt. Die Responderzellen lagerten für diese 48 Stunden in flüssigem Stickstoff.

Zur Stimulation der Responderzellen diente in der gemischten Lymphozytenkultur ein Stimulatorzellpool, der Lymphozyten von fünf nicht verwandten, HLA-D-differenten Blutspendern enthielt. In den Mitogenkulturen wurden die Mitogene Protein A, Pokeweed Mitogen und Phytohämagglutinin in den bei der Besprechung der Mitogene angegebenen Endkonzentrationen verwendet. Um die Proliferationsaktivität der Bystander-, Stimulator- und Suppressorzellen zu hemmen, wurden sie mit einer Cs¹³⁷-Quelle (Wälischmiller, Markdorf/Bodensee) mit 40 Gy bestrahlt.

Zur Untersuchung der Concanavalin A-induzierten Suppressorzellaktivität stimulierten wir 5×10^4 Responderzellen in Gegenwart von 5×10^4 Suppressorzellen des selben Probanden durch 5×10^4 Stimulatorzellen in der gemischten Lymphozytenkultur bzw. durch die genannten Mitogene in den Mitogenkulturen (b₁).

Als Kontrollen wurden analoge Stimulationen von Responderzellen durch Stimulatorzellen bzw. Mitogene in Gegenwart von Bystanderzellen durchgeführt (a₁).

Simultan wurden Mediumkontrollen (Responder- und Bystanderzellen gegen Medium: a₂; Responder- und Suppressorzellen

gegen Medium: b_2) mitgeführt (53).

Alle Ansätze wurden wieder sechsfach durchgeführt und der H^3 -Thymidineinbau in die Responderblasten-DNS mittels Flüssigkeitsszintillation in einem Packard TRI-CARB 460 C Automatic Liquid Scintillation System-Counter (Packard Instrument Company Inc., Warrenville, USA) gemessen. Aus den so ermittelten Counts pro Minute errechneten wir den Hemmungsindex für die prozentuale Suppression der Responderzellblastopoese durch Concanavalin A-aktivierte Lymphozyten nach der Formel:

$$\text{Suppression (\%)} = \left[1 - (b_1 - b_2)/(a_1 - a_2) \right] \times 100$$

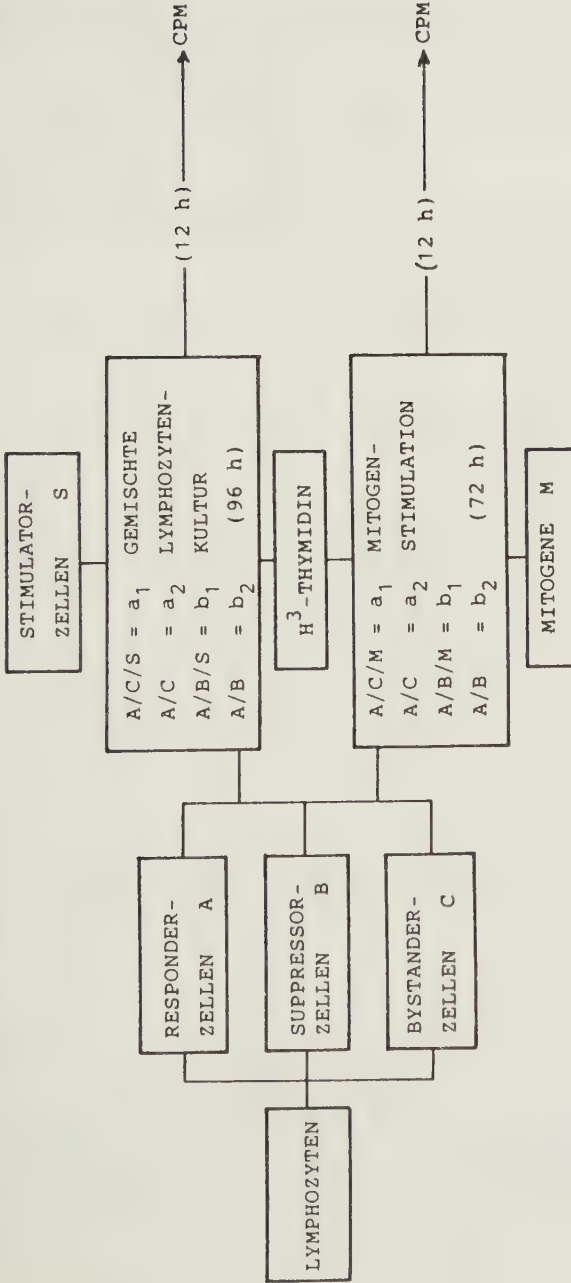
Arithmetisch negative Suppressionswerte wurden gleich 0 % gesetzt (53).

Die Abbildung 1, S.27 gibt einen schematischen Überblick über den von uns durchgeführten Suppressorzellassay.

2.2.3. Bestimmung der T-Zellsubfraktionen:

Unter Verwendung monoklonaler Antikörper wurden im Immunfluoreszenzassay folgende T-Zellsubfraktionen bestimmt: OKT 3 = alle T-Zellen, OKT 4 = T-Helferzellen, OKT 8 = T-Suppressorzellen und zytotoxische T-Zellen (Ortho Diagnostic Systems, Raritan, New Jersey, USA). Das Verhältnis OKT4/OKT8 (Helfer-/Suppressorzellverhältnis) wurde aus den sich ergebenden Einzelwerten errechnet. Die Auswertung der Präparate erfolgte am Immunfluoreszenzmikroskop (Othoplan, Leitz, Wetzlar) (8, 120, 167, 168).

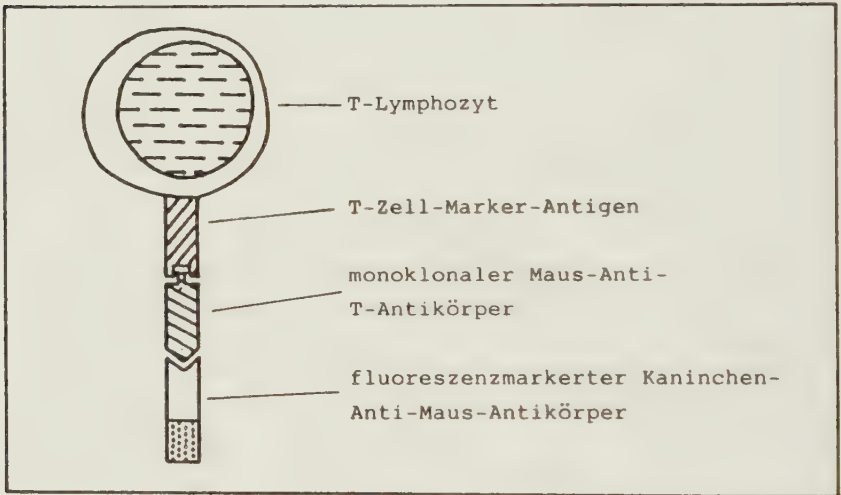
Abbildung 1: Suppressorzellassay



Abkürzungen: a_1 = Responderzellen in Gegenwart allogener Stimulatorzellen oder Mitogene und autologer Bystanderzellen; a_2 = Responderzellen und autologe Bystanderzellen allein; b_1 = Responderzellen in Gegenwart autologer Con A-behandelter Lymphozyten und allogener Stimulatorzellen oder Mitogene; b_2 = Responderzellen und autologe Con A-behandelte Lymphozyten (Suppressorzellen) allein; CPM = counts pro Minute; A = Responderzellen; C = Bystanderzellen; B = Suppressorzellen; M = Mitogene; S = Stimulatorzellen; h = Stunden

Die absoluten Zahlen der T-Zellsubpopulationen wurden über die mit Hilfe der fluoreszenzmarkierten monoklonalen Antikörper ermittelten Werte anhand des aktuellen Blut- und Differentialblutbildes errechnet. Das Grundprinzip des Monoklonalenassays ist in der folgenden Abbildung 2 dargestellt.

Abbildung 2: Grundprinzip der T-Zellsubpopulationsbestimmung mit monoklonalen Antikörpern.



Eine Übersicht über alle durchgeführten Untersuchungen zeigt die Tabelle 3, S.29.

2.3. Statistische Analysen:

Zum Vergleich der Werte von Patientenkollektiv und Kontrollgruppe verwendeten wir zunächst den t-Test für unverbundene Stichproben ungleicher Varianz. Als Ergebnis des Tests erhält man einen Wert p , der ein Maß für die Gleichheit oder Ungleichheit der beiden miteinander verglichenen Gruppen

Tabelle 3: Übersicht über die durchgeführten Untersuchungen.

Immunfunktionelle Untersuchungen:

1. Mitogenstimulationen: Protein A (SpA)
Concanavalin A (Con A)
Pokeweed Mitogen (PWM)
Phytohämagglutinin (PHA)
2. Antigenstimulationen: Varidase
Tetanustoxoid
Diphtherietoxoid
Tuberkulin
Vacciniaantigen
Masernantigen
Rötelpantigen
Antigencocktail
3. Suppressorzellen: Protein A (SpA)
Pokeweed Mitogen (PWM)
Phytohämagglutinin (PHA)
gemischte Lymphozytenkultur
(MLC)

Bestimmung von T-Lymphozyten und T-Zellsubpopulationen:

1. OKT 3: alle T-Zellen
2. OKT 4: T-Helferzellen
3. OKT 8: T-Suppressorzellen und zytotoxische
T-Effektorzellen
4. OKT 4/8: Helfer-Suppressorzellverhältnis

ist. Je kleiner der Wert ist, desto ungleicher, verschiedener sind die Gruppen voneinander. In biologischen Testsystemen spricht man von einem signifikantem Unterschied ab einem p-Wert < 0.05 (111, 216).

3. Ergebnisteil I

3.1. Mitogen- und Antigenstimulationen

3.1.1. Mitogene

In allen getesteten Mitogensystemen bestehen keine signifikanten Unterschiede zwischen Patienten- und Kontrollgruppe. Nur die Mittelwerte des Reaktionsverhaltens der Patienten liegen in allen Testsystemen höher als die der Kontrollpersonen (siehe Tabelle 4, S.31)

Bei einer gleichzeitig durchgeführten Untersuchung über die dilatative Kardiomyopathie (DCM) im Vergleich zu Normalpersonen wurde ein statistisch hoch signifikant stärkeres Reaktionsverhalten der Patientenlymphozyten gegenüber Concanavalin A (25 µg) und Phytohämagglutinin beschrieben. Ebenso waren die Mittelwerte in allen anderen Testsystemen erhöht (58).

Die erhöhten Mittelwerte der Myokarditis, die als Vor- oder Frühstadium der DCM betrachtet wird, und die bei der DCM beobachteten Werte könnten auf eine insgesamt erhöhte lymphozytäre Reaktivität der Patienten gegenüber den Gesunden hinweisen (siehe Abb. 3, S.32 und Abb. 4, S.33).

3.1.2. Antigene:

Die Lymphozyten der Myokarditispatienten reagieren signifikant höher als die der Kontrollgruppe gegen Masernantigen ($p < 0.02$) (Abb. 5, S.34), gegen Varidase ($p < 0.01$) (Abb. 6,

S.36) und gegen den Antigencocktail ($p < 0.05$) (Abb. 7, S.37).

Bei den lymphozytären Reaktionen gegen Tetanustoxoid, Diphtherietoxoid, Tuberkulin GT 1, Tuberkulin GT 10, Vaccinia- und Rötelnantigen zeigen sich keine wesentlichen Unterschiede zwischen den beiden Gruppen. (Tab. 5, S.34)

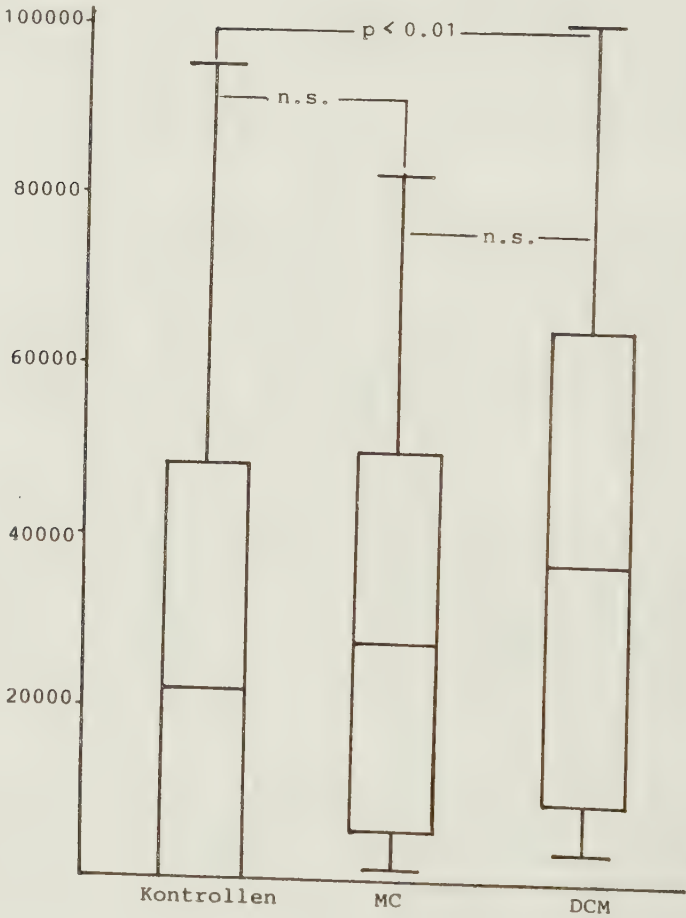
Tabelle 4: Lymphozytenreaktivität auf Mitogene (cpm) -
Myokarditis gegen Kontrollgruppe

	Myokarditis (n = 44)			Kontrollen (n = 88)	
Mitogene	$\bar{x}$	SD	p<	$\bar{x}$	SD
SpA	2423	3334	n.s.	2155	2382
Con A (25 ug)	25300	19564	n.s.	21104	23100
Con A (12,5 ug)	13374	11118	n.s.	11815	12057
PWM	24239	18117	n.s.	20440	21426
PHA	139218	75351	n.s.	119266	82810

Lymphozyten von Patienten mit Myokarditis reagieren in keinem Testsystem signifikant unterschiedlich zu denen der gesunden Kontrollprobanden. Der Mittelwert der Lymphozytenreaktivität in der Patientengruppe liegt allgemein höher als bei den Kontrollen.

Abkürzungen: cpm = counts per minute; $\bar{x}$ = Mittelwert; SD = Standardabweichung; n.s. = nicht signifikant; SpA = Protein A; Con A = Concanavalin A; PWM = Pokeweed Mitogen; PHA = Phytohämagglutinin.

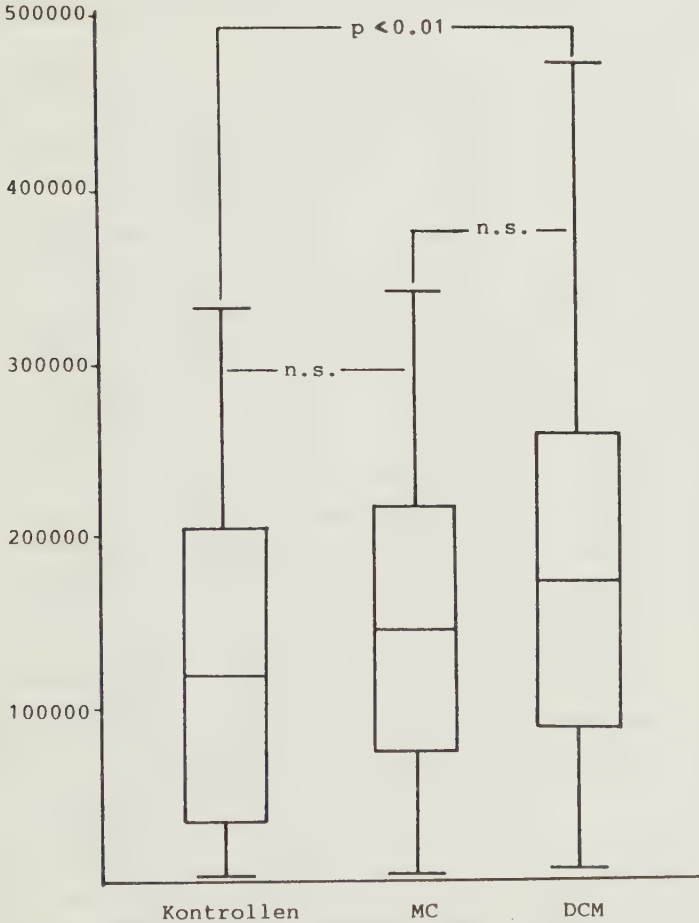
Abbildung 3: Lymphozytenreaktivität auf Concanavalin A
(25 µg)
(counts/min)



Lymphozyten von Patienten mit Myokarditis reagieren analog der Kontrollgruppe, der Mittelwert ist jedoch höher. Patienten mit DCM reagieren signifikant stärker.

Abkürzungen: MC = Myokarditis; DCM = dilatative Kardiomyopathie

Abbildung 4: Lymphozytenreaktivität auf Phytohämagglutinin
(counts/min)



Lymphozyten von Patienten mit Myokarditis reagieren analog der Kontrollgruppe, der Mittelwert ist jedoch höher. Patienten mit dilatativer Kardiomyopathie reagieren signifikant stärker.

Abkürzungen: MC = Myokarditis; DCM = dilatative Kardiomyopathie

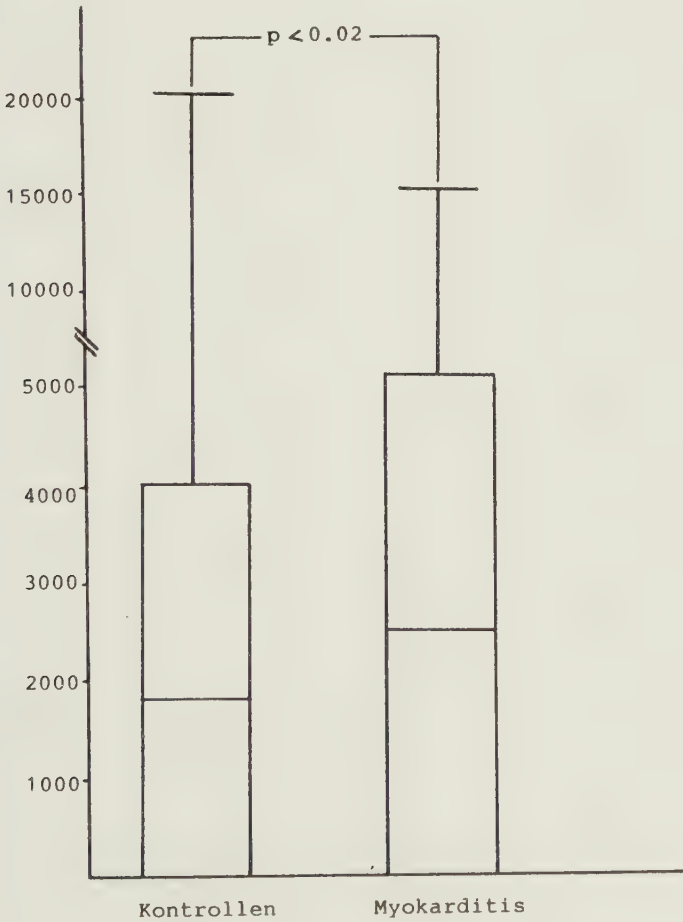
Tabelle 5: Lymphozytenreaktivität auf Antigene (cpm)
Myokarditis gegen Kontrollgruppe

Antigene	Myokarditis (n = 44)		p	Kontrollen (n = 88)	
	$\bar{x}$	SD		$\bar{x}$	SD
Varidase	6490	9303	0.01	3807	6734
Tetanustoxoid	5972	9902	n.s.	10439	19065
Diphtherietoxoid	11767	17204	n.s.	10397	34691
Tuberkulin GT 1	3510	4587	n.s.	2485	3453
Tuberkulin GT 10	2877	3665	n.s.	2584	3828
Masernantigen	2245	2754	0.02	1684	2301
Vacciniaantigen	3452	4596	n.s.	4220	8777
Rötelnantigen	2272	3470	n.s.	2053	3307
Antigencocktail	27290	32445	0.05	13966	21165

Lymphozyten von Patienten mit Myokarditis reagieren auf Varidase, Masernantigen und den Antigencocktail statistisch signifikant höher als die von gesunden Kontrollpersonen. In den übrigen Antigensystemen verhalten sie sich analog der Kontrollgruppe.

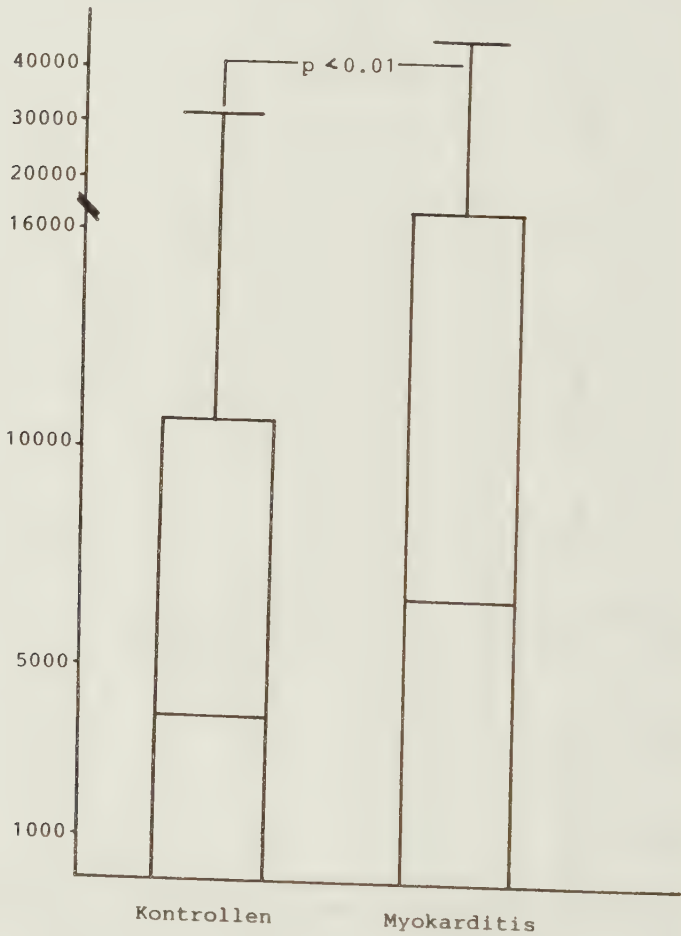
Abkürzungen: $\bar{x}$ = Mittelwert; SD = Standardabweichung; n.s. = nicht signifikant

Abbildung 5: Lymphozytenreaktivität auf Masernantigen -
Myokarditis gegen Kontrollgruppe.
(counts/min)



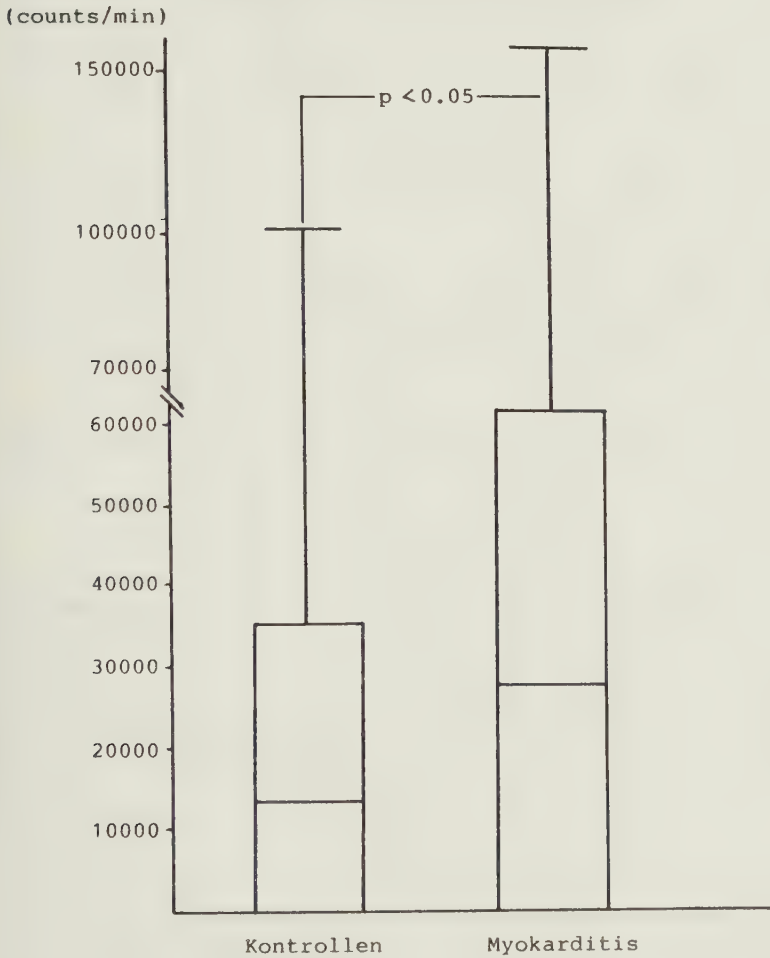
Patienten mit Myokarditis reagieren signifikant höher als Normalprobanden.

Abbildung 6: Lymphozytenreaktivität auf Varidase -
Myokarditis gegen Kontrollgruppe.
(counts/min)



Patienten mit Myokarditis reagieren signifikant höher als Normalprobanden.

Abbildung 7: Lymphozytenreaktivität auf Antigencocktail -
Myokarditis gegen Kontrollgruppe.



Patienten mit Myokarditis reagieren signifikant höher als Normalpersonen.

3.2. Suppressorzellaktivität:

Patienten mit Myokarditis zeigen im Protein A-Testsystem ($p < 0.01$) und in der gemischten Lymphozytenkultur ($p < 0.00005$) eine hoch bzw. höchst signifikant erniedrigte Suppressorzellaktivität (siehe dazu Tab 6, S. 38 und Abb. 8, S. 39 und Abb. 9, S.40).

Im Pokeweed Mitogen- und Phytohämagglutininsystem ergeben sich zwischen Patienten- und Kontrollgruppe keine Unterschiede (Tab. 6, S.38).

Bemerkenswert erscheint die große Streubreite der Kontrollgruppe, sodaß auch gesunde Proanden eine ebenso niedrige Suppressorzellaktivität aufweisen können wie Patienten mit Myokarditis (Abb. 8, S.39 und Abb. 9, S.40).

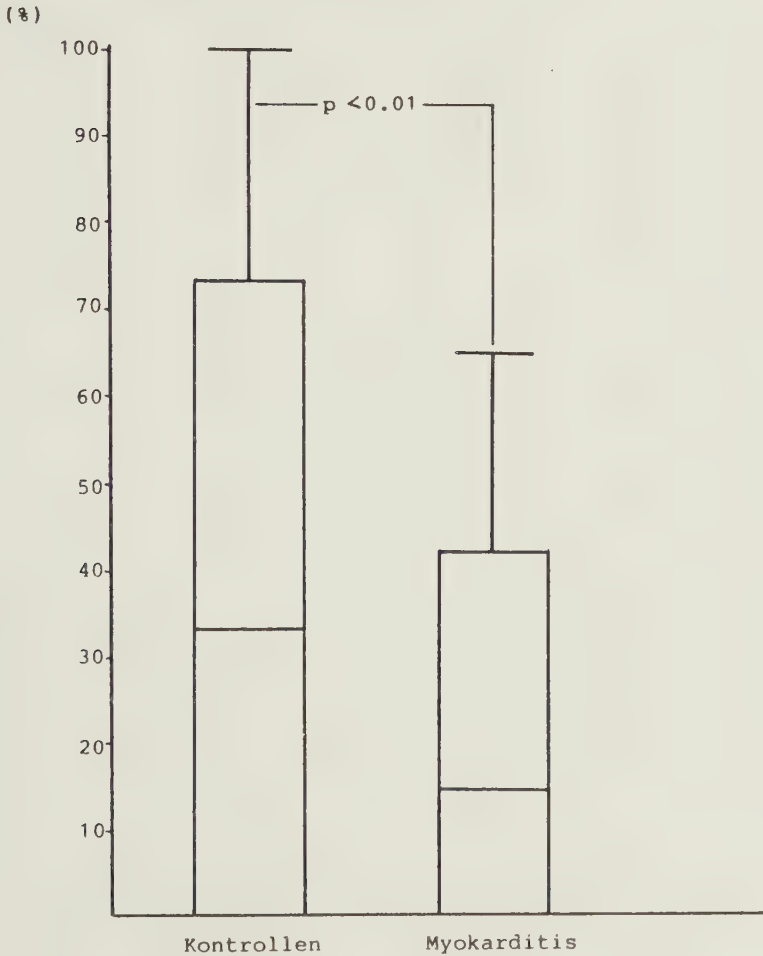
Tabelle 6: Suppressorzellaktivität (%) - Myokarditis (MC)

	Myokarditis			Kontrollen	
Testsystem	$\bar{x}$	SD	$p <$	$\bar{x}$	SD
SpA	16 %	25 %	0.01	33 %	40 %
PWM	29 %	28 %	n.s.	36 %	38 %
PHA	32 %	25 %	n.s.	32 %	35 %
MLC	15 %	28 %	0.0005	56 %	35 %

Im Protein-A-System und in der gemischten Lymphozytenkultur zeigen Patienten mit Myokarditis gegenüber den Kontrollen eine hoch bzw. höchst signifikant erniedrigte Suppressorzellaktivität.

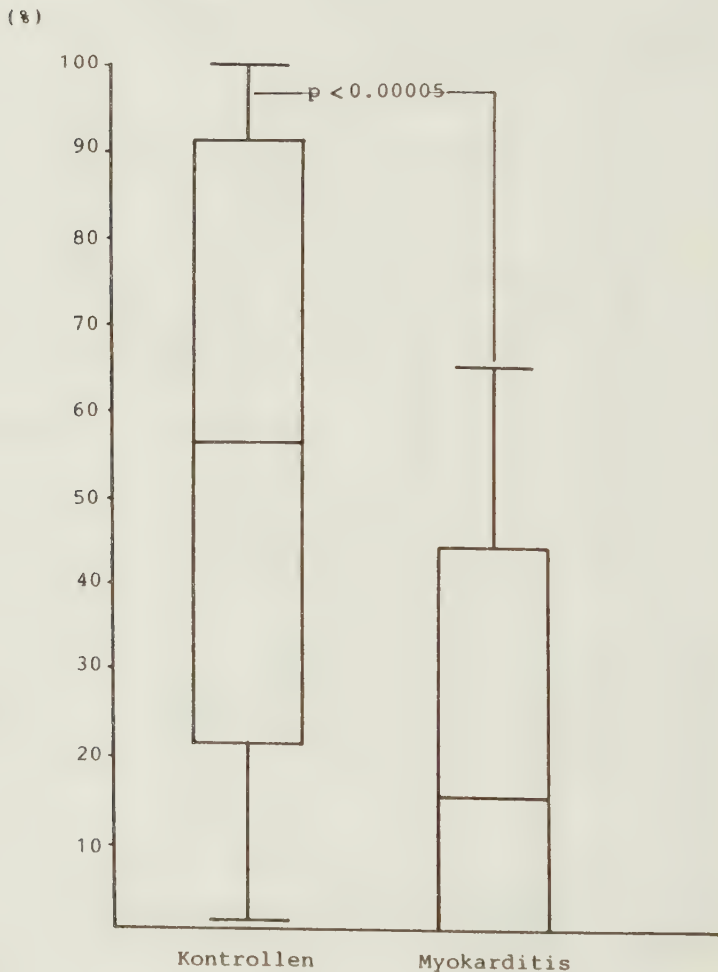
Abkürzungen: $\bar{x}$ = Mittelwert; SD = Standardabweichung; p = p-Wert; SpA = Protein A; PWM = Pokeweed Mitogen; PHA = Phytohämagglutinin; MLC = gemischte Lymphozytenkultur.

Abbildung 8: Suppressorzellaktivität (%) im Protein A-System
Myokarditis (MC) gegen Kontrollen



Patienten mit Myokarditis zeigen im Protein A-Testsystem eine gegenüber den Kontrollen signifikant erniedrigte Suppressorzellaktivität.

Abbildung 9: Suppressorzellaktivität (%) in der gemischten Lymphozytenkultur, Myokarditis (MC) gegen Kontrollen



Patienten mit Myokarditis zeigen in der gemischten Lymphozytenkultur eine gegenüber den Kontrollen signifikant erniedrigte Suppressorzellaktivität.

3.3. T-Zellsubpopulationen:

Zwischen Patienten- und Kontrollgruppe finden sich keine signifikanten statistischen Unterschiede bei den Lymphozytenzahlen im peripheren Blut sowie bei den absoluten Zahlen der T-Zellen und ihrer Subpopulationen. Da die T-Zellsubpopulationen jeweils gleich hohe prozentuale Anteile an der Gesamtmenge der T-Zellen in beiden Gruppen haben, zeigt auch das Verhältnis OKT 4/OKT 8 keinen Unterschied (Tab.7, S.41 und Tab.8, S.42).

Tabelle 7: T-Zellsubfraktionen - Myokarditis und Kontrollgruppe

	Myokarditis (n = 44)		p<	Kontrollen (n = 88)	
	$\bar{x}$	SD		$\bar{x}$	SD
T-Zellen, gesamt OKT 3	37 %	11 %	n.s.	42 %	13 %
T-Helferzellen OKT 4	22 %	13 %	n.s.	25 %	10 %
T-Suppressorzellen OKT8	15 %	5 %	n.s.	19 %	7 %
OKT 4/OKT 8	1.4	0.9	n.s	1.5	0.9

Bei der Myokarditis und bei der Kontrollgruppe gibt es keine signifikanten Unterschiede in Bezug auf den prozentualen Anteil der T-Zellen und der T-Zellsubfraktionen sowie das OKT 4/OKT 8-Verhältnis.

Tabelle 8: T-Zellsubfraktionen (absolut/ μ l), Myokarditis und Kontrollgruppen

	Myokarditis (n = 44)		p<	Kontrollen (n = 88)	
	$\bar{x}$	SD		$\bar{x}$	SD
Lymphozyten	2052	694	n.s.	2067	612
T-Zellen	824	224	n.s.	1031	375
T-Helferzellen	446	166	n.s.	617	280
T-Suppressorzellen	385	104	n.s.	482	214

Zwischen Myokarditis und Kontrollgruppe bestehen keine Unterschiede in Bezug auf Lymphozyten-, T-Zell-, T-Helferzell- und T-Suppressorzellzahlen. Alle liegen im peripheren Blut in normaler Anzahl vor.

3.4. Diskussion Ergebnisteil I:

In der Folge sollen nun sich die durch unsere Testmethoden ergebenden Befunde diskutiert werden, vor allem in Bezug auf die Eingangs unter 1.4. Ziele der Untersuchung gestellten Fragen. Doch zuerst eine kurze kritische Betrachtung unserer Testmethoden.

Es muß zunächst darauf hingewiesen werden, daß die Übertragung von In-vitro-Untersuchungen auf die Verhältnisse im lebenden menschlichen Organismus grundsätzlich problematisch

und nur mit Vorbehalt möglich ist. Zudem wurden alle unsere Tests mit aus peripherem Blut gewonnenen Lymphozyten durchgeführt, einem relativ kleinem Kompartiment des lymphatischen Systems, das seinerseits wiederum nur einen, wenn auch sehr bedeutenden Teil des gesamten Immunsystems darstellt (9). Für die Verwendung von Lymphozyten lassen sich dennoch einige positive Aspekte anführen. Zum einen sind diese Versuche am Menschen nicht durchführbar. Das Tierexperiment als Modell für die Reaktion eines lebenden Organismus bringt mindestens ebenso viele Probleme bei der Übertragung der Ergebnisse auf den Menschen mit sich wie die Untersuchung an menschlichen Lymphozyten in vitro. Da hierzu nur eine relativ geringe Menge an Material notwendig ist und die Lymphozyten ohne Schwierigkeiten aus dem Blut separiert werden können, erscheint die Lymphozytenkultur als durchaus brauchbares Modell des menschlichen Immunsystems (23, 125).

Unter Berücksichtigung der eingeschränkten Aussagekraft ist es offenbar möglich, das Reaktionsmuster unseres Patientenkollektivs zu beschreiben und Abweichungen vom Verhalten der Kontrollgruppe zu erkennen.

Zwischen Patienten- und Kontrollkollektiv war in den meisten getesteten Systemen kein wesentlicher Unterschied in der Reaktivität ihrer Lymphozyten gegen Mitogene und Antigene feststellbar. Während bei den Mitogenen überhaupt keine signifikanten Differenzen bestanden, die beiden Gruppen also als identisch zu bewerten sind, gab es in drei von neun Antigensystemen (Varidase $p < 0.01$; Masernantigen $p < 0.02$; Antigencocktail $p < 0.05$) eine signifikant höhere Lymphozytenreaktion als in der Kontrollgruppe.

Die T-Zellsubfraktionen beider Gruppen verhielten sich analog. Sowohl die absoluten Zahlen pro Mikroliter Blut wie auch der prozentuale Anteil der T-Zellen (OKT 3), T-Helferzellen (OKT 4) und T-Suppressor- bzw. zytotoxischen T-Zellen

(OKT 8) waren bei den Patienten und Kontrollprobanden gleich.

Ein signifikanter bzw. höchst signifikanter Unterschied zeigte sich im Suppressorzellassay. Im Protein-A-System sowie in der gemischten Lymphozytenkultur war die Suppressorzellaktivität der Myokarditispatienten niedriger als die der gesunden Probanden (SpA $p < 0.01$; MLC $p < 0.0005$). Mit diesem nach Eckstein modifizierten Suppressorzellansatz konnten wir also die bereits in der Literatur beschriebene erniedrigte Suppressorzellaktivität nachweisen (51, 52, 53, 54, 55, 58). Dieser Befund wurde unterdessen von Maisch und Mitarbeitern bestätigt (129). Die erniedrigte Suppressorzellaktivität spielt sicher als immunpathologischer Faktor in der Genese der Myokarditis eine wichtige Rolle.

Als Ursache der erniedrigten Suppressorzellaktivität kommen verschiedene Möglichkeiten in Betracht. Es könnte eine quantitative Verminderung des Suppressorzellkompartiments vorliegen. Die Bestimmung der entsprechenden T-Zellsubpopulationen mit monoklonalen Antikörpern (OKT 8) ergab zwar keinen wesentlichen Unterschied zwischen Patienten und Normalprobanden, da jedoch im OKT-8-positiven Kompartiment sowohl Suppressorzellen wie auch zytotoxische T-Effektorzellen enthalten sind, kann eine zahlenmäßige Verminderung der Suppressorzellen zu Gunsten der zytotoxischen T-Zellen nicht ausgeschlossen werden. Des weiteren besteht die Möglichkeit eines funktionellen Defekts bei normaler Anzahl der Suppressorzellen. Außerdem könnte die verminderte Suppressorzellaktivität Ausdruck einer genetisch determinierten Variante des Immunsystems sein.

Fudenberg formulierte 1971 die Hypothese, daß alle Autoaggressionskrankheiten durch genetisch determinierte Defekte einer T-Zellsubpopulation charakterisiert sein könnten (70). Belegt wurde diese Hypothese unter anderem an

Patienten mit Lupus erythematoses oder chronisch aggressiver Hepatitis, beides Autoaggressionskrankheiten, die eine erniedrigte Suppressorzellaktivität aufweisen (20, 93).

Hinweis auf den autoaggressiven Charakter der Myokarditis gibt der Nachweis von an myokardialen Strukturen gebundenen Antikörpern, der sich in bis zu 76 % der Fälle durchführen läßt. An Kernstrukturen gebundenes IgM-Antiglobulin ließ sich sogar bei allen Patienten nachweisen (18, 19). Eine Beteiligung autoaggressiver Mechanismen bei der Genese der Myokarditis muß man daher wohl in Erwägung ziehen. Dies kann unterdessen als Tatsache betrachtet werden, da es im Tierexperiment bereits bestätigt wurde (95).

Die Myokarditis entwickelt sich im Verlauf einer Virusinfektion, wobei vor allem Coxsackie-B-Viren von Bedeutung zu sein scheinen, da erhöhte Titer bei allen Patienten nachgewiesen werden konnten (27, 95, 221, 231). Die klinisch manifeste Erkrankung, der der Infekt normalerweise Wochen bis Monate voraus geht, kann ausheilen, dann allerdings mit Defekten im Herzmuskelgewebe, oder in eine chronische Verlaufsform übergehen, die dann nicht mehr von der dilatativen Kardiomyopathie zu unterscheiden ist. Tödliche Krankheitsverläufe werden auch beschrieben (116, 230).

Ausgehend von der Fudenbergischen Hypothese, daß alle Autoaggressionskrankheiten durch genetisch determinierte Defekte der Suppressorzellen bedingt sein könnten (70), kann man sich für die Pathogenese der Myokarditis das folgende Geschehen vorstellen:

Coxsackie-B-Viren befallen den menschlichen Organismus. Aktivierte B-Zellen synthetisieren Antikörper, deren Synthese aber durch die niedrige Suppressorzellaktivität nicht geregelt und unkontrolliert abläuft, sodaß zu viele Antikörper produziert werden, die sich dann nicht mehr nur gegen virusbefallenes, sondern auch gegen gesundes Herzmuskelge-

webe richten. Die niedrige, vielleicht genetisch bedingte Suppressorzellaktivität würde also Schrittmacherdienste im Sinne des Ausbruchs der Autoaggressionsmyokarditis und deren Übergang in eine dilatative Kardiomyopathie leisten.

Für eine autoaggressive Komponente bei einem Teil der Myokarditiden sprechen auch bisherige Erfahrungen mit immunsuppressiven Therapieversuchen. Ein Teil der Erkrankungen kam unter Therapie zur Ausheilung, bei einigen anderen Fällen wurde eine Verschlechterung des Krankheitsbildes beobachtet (109, 112, 174). Grund hierfür könnte sein, daß nicht nur Coxsackie-B-Viren, sondern auch andere Viren eine Myokarditis mit Herzmuskelbefall auslösen können, jedoch keine autoaggressiven Mechanismen in Gang setzen. Eine immunsuppressive Therapie würde in solch einem Fall ablaufende Immunreaktionen unterdrücken und der Zustand des Patienten würde sich verschlechtern.

Mit entscheidend für den Erfolg einer immunsuppressiven Therapie dürfte die richtige Auswahl der Patienten sein. Die Myokardbiopsie ist bislang die einzigste Möglichkeit die Diagnose Myokarditis zu sichern (150, 174). Doch könnte der Faktor "erniedrigte Suppressorzellaktivität" und ein erhöhter Coxsackie-B-Virustiter auf ein autoaggressives Geschehen hinweisen und als diagnostischer Parameter in Erwägung gezogen werden.

Abschließend soll zusammenfassend überprüft werden, in wie weit die eingangs unter 1.4. Ziele der Untersuchung gestellten Fragen bisher beantwortet wurden.

Frage 1 bezüglich immunfunktioneller Reaktionsmuster:

Die bereits beschriebene erniedrigte Suppressorzellaktivität konnten wir bestätigen (51). Als weiteres immunfunktionelles Reaktionsmuster stellt sich eine erhöhte lymphozytäre Reaktivität in den Antigentestsystemen Masernantigen,

Varidase und Antigencocktail dar.

Frage 2 bezüglich der Pathogenese:

Als Hypothese formuliert, könnte die Myokarditis Ausdruck autoaggressiven Geschehens in Folge einer Cocksackie-B-Virusinfektion mit überschießender Antikörpersynthese von B-Zellen auf Grund verminderter Suppressorzellaktivität sein.

Frage 3 nach Risikokollektiven:

Bei der Betrachtung unserer Ergebnisse fällt auf, daß eine Reihe von gesunden Normalprobanden eine ähnlich niedrige Suppressorzellaktivität aufweist wie die Patienten mit Myokarditis. Wir stellten uns daher die Frage, ob sich innerhalb unseres Kontrollkollektivs Gruppen von Normalprobanden mit unterschiedlicher Immunkfunktion definieren lassen, die vielleicht genetisch bedingt sein könnte, wenn man auf die These von Fudenberg zurückgreift (70). Hypothetisch betrachtet, könnten Normalpersonen mit niedriger Suppressorzellaktivität bei Befall mit Cocksackie-B-Viren ein erhöhtes Risiko besitzen, um an einer Autoaggressionsmyokarditis zu erkranken.

Zur Klärung dieser Fragen führten wir eine Multivarianzanalyse unserer Meßwerte durch, deren Resultate im Ergebnisteil II besprochen werden.

Frage 4 bezüglich der Diagnose:

Die in Frage 1 angesprochenen Reaktionsmuster in Verbindung mit einem erhöhten Cocksackie-B-Virustiter könnten mit als Diagnostikum einer Autoaggressionsmyokarditis gelten, vor allem weil diese Befunde viel einfacher zu gewinnen sind als eine mittels Herzkatheter durchgeführte Myokardbiopsie.

Frage 5 bezüglich der Therapie:

Bei Auftreten der in Frage 1 und 4 angesprochenen Befunde sollte eine immunsuppressive Therapie in Erwägung gezogen werden.

TEIL II: CLUSTERANALYSE

4. Ergebnisteil II - Clusteranalyse:

4.1. Statistische Methoden:

Zur Überprüfung, ob es sich bei unserem Normalprobandenkollektiv um eine homogene Gruppe handelt, oder ob sich Untergruppen finden lassen, führten wir eine Clusteranalyse durch.

Was ist eine Clusteranalyse? Die Clusteranalyse bietet Methoden zur Klassenbildung an, d.h. zur Einteilung einer Menge von Objekten in kleinere Teilmengen. Objekte, die der selben Klasse zugeordnet werden, sollten möglichst ähnlich sein; Objekte die verschiedenen Klassen zugewiesen werden, sollen möglichst unterschiedlich sein (106).

Bei unseren bisher durchgeführten statistischen Analysen sind wir von zwei vorgegebenen Klassen bzw. Kollektiven, der Normalprobanden- und der Myokarditisgruppe, ausgegangen und haben versucht zwischen diesen beiden Gruppen Unterschiede zu finden, was uns auch gelungen ist. Bei der Clusteranalyse sind keine Klassen vorgegeben. Ganz im Gegenteil, die Aufgabe der Clusteranalyse besteht gerade darin, Klassen zu bilden. Im allgemeinen wird dazu für jedes Objekt eine Reihe von Merkmalen erhoben, in unserem Fall "Objekt" Mensch mit seinen "Merkmalen" immunologische Parameter (siehe Übersicht Tab. III, S.29). Die Klassen sollen hinsichtlich dieser Merkmale in sich homogen und voneinander deutlich verschieden sein. Dabei gehen die Merkmale nicht nach hierarchischen Kriterien sondern samt und sonders gleichwertig in die Analyse ein.

Eingesetzt wird die Clusteranalyse als statistisches Verfahren, wenn die Anzahl der Objekte und die Anzahl der erhobenen Merkmale sehr groß ist. Die Menge der anfallenden Daten soll durch die Klassifikation überschaubar werden, jedoch ist die Datenreduktion nicht das einzige Ziel.

Weitergehende Ziele sind die genauere Untersuchung von Repräsentanten der entstehenden Einzelklassen, die Anwendung weiterführender statistischer Verfahren innerhalb und zwischen den Klassen und vor allem die Interpretation der Klassen (106).

Um unserer Datenflut Herr zu werden, verwendeten wir ein Programm für eine Clusteranalyse der University of California, das dort entwickelt und ständig verbessert wurde. (BMDP2M - Cluster Analysis of Cases; BMDP Statistical Software Inc., 1964 Westwood Blvd Suite 202 (213) 4755700; Program revised April 1982 - Manual revised 1981; Copyright (c) 1982 Regents of University of California.)

Als Ähnlichkeits- oder Abstandsmaß wurde die mit der inversen Kovarianzmatrix gewichtete Summe der Differenzquadrate zwischen den einzelnen Parametern genommen, der sogenannte RAO-Abstand, der für jedes Probandenpaar berechnet wurde. In einem anschließenden Amalgamationsprozeß wurde zunächst das Probandenpaar mit dem geringsten RAO-Abstand zu einem Cluster zusammengefaßt, der durch die Mittelwerte seiner immunologischen Parameter gekennzeichnet war. Dann wurde erneut der Abstand jedes einzelnen Probanden zu diesem Cluster berechnet. Je nach Größe des Abstandes wurde der Proband dann dem Cluster zugeordnet oder mit dem Probanden, der den geringsten Abstand zu ihm hatte, zu einem neuen Cluster zusammengefaßt.

Um zu überprüfen, ob sich die auf diese Weise gefundenen Cluster statistisch signifikant voneinander unterscheiden, wurde als Diskriminanzanalyse der F-Test gerechnet, wobei eine Signifikanz bei F-Werten > 4 angenommen werden kann. Gleichzeitig wurden auch die Unterschiede in den Einzeltestsystemen mit dem auch in Teil I angewandten t-Test für unverbundene Stichproben ungleicher Varianz überprüft. Wie schon dort bemerkt, kann man in einem biologischen

Testsystem von einer statistischen Signifikanz bei p -Werten ≤ 0.05 sprechen.

Die Auswertung dieser Analyse wurde in der Hauptsache am Institut für Biometrie der Medizinischen Hochschule Hannover bei Professor Dr. B. Schneider durchgeführt, dem wir wegen seiner hervorragenden mathematischen Beratung bei der Auswertung der Ergebnisse zu großem Dank verpflichtet sind.

4.2. Kontrollen:

4.2.1. Ergebnisse:

In der Clusteranalyse zeigte sich, daß unser 88 Personen umfassendes Kontrollkollektiv aus drei immunfunktionell unterschiedlichen Gruppen besteht.

Die Gruppe 1 wird von 18 Probanden gebildet, deren Lymphozyten auf Stimulation durch Mitogene und Antigene mittelhoch reagieren. Die Gruppe 2 besteht aus 49 niedrig reagierenden Kontrollpersonen, während die 21 Probanden der Gruppe 3 eine hohe lymphozytäre Reaktion nach Stimulation durch Mitogene und Antigene zeigen (siehe Tab. 10, S.54 und Tab. 11, S.55). Die drei Gruppen sind hinsichtlich dieser Parameter in sich homogen, unterscheiden sich jedoch voneinander statistisch signifikant, was p -Werte $p < 0.05$ bis $p < 0.00005$ zum Ausdruck bringen (siehe Tab. 12, S.56 und Tab. 13, S.57). Die Niedrigreagentengruppe 2 zeigt in zehn von vierzehn Testsystemen signifikant geringere cpm-Werte als die Gruppe 1. Noch deutlicher ist der Unterschied zur Gruppe 3. Hier sind die Meßwerte der Gruppe 2 in allen getesteten Mitogen- und Antigensystemen signifikant niedriger als die der Hochreagentengruppe 3 (p -Werte zwischen $p < 0.03$ und $p < 0.00005$). Die Lymphozyten der Probanden von Gruppe 1 und 3 reagieren in den drei Test-

systemen Protein A, Concanavalin A (12.5 µg) und Tetanustoxoid gleich hoch. Im Concanavalin A-System (25 µg) liegen die Meßwerte der Gruppe 1 höher ($p < 0.01$), während die Reaktion gegen alle anderen Mitogene und Antigene signifikant niedriger sind als die der Gruppe 3 (p-Werte zwischen $p < 0.05$ und $p < 0.0005$).

Die Abbildungen 10 bis 23, S.58 bis S.71, zeigen Mittelwerte, Standardabweichung sowie Minimal- und Maximalwerte der drei Gruppen in den einzelnen Mitogen- und Antigentestsystemen.

Suppressorzellaktivität (Tab. 14, S.72), wie auch absolute Zahlen und Kompartimentgrößen der T-Zellen (OKT 3, OKT 4, OKT 8) (Tab.15, S.73), sowie das Verhältnis OKT 4- zu OKT 8-positiver Zellen tragen interessanterweise wenig zur Diskriminierung der drei Gruppen bei. Für keinen dieser Parameter ergaben sich signifikante Unterschiede zwischen den Clustern. Dies gilt auch für die Alters- und Geschlechtsverteilung der Probanden in den einzelnen Gruppen (siehe folgende Tabelle 9).

Tabelle 9: Alters- und Geschlechtsverteilung der Probanden in den einzelnen Clustern.

		Gruppe 1	Gruppe 2	Gruppe 3
Alter (a)	$\bar{x}$	30	30	31
	SD	9	9	8
Geschlecht	m	28 %	29 %	38 %
	w	72 %	71 %	62 %

Abkürzungen: a = Jahre; $\bar{x}$ = Mittelwert; SD = Standardabweichung; m = männlich; w = weiblich.

Tabelle 10: Kontrollcluster - Lymphozytenreaktivität auf Mitogene (counts/min).

CLUSTER	Gruppe 1 (n = 18)		Gruppe 2 (n = 49)		Gruppe 3 (n = 21)	
Mitogene	$\bar{x}$	SD	$\bar{x}$	SD	$\bar{x}$	SD
SpA	3023	3030	1434	892	3478	3657
Con A (25 μ g)	37705	25560	10985	11934	27822	30481
Con A (12.5 μ g)	17206	11178	4905	4766	20336	14312
PWM	24507	18565	10451	11098	36215	22680
PHA	147362	75529	82103	70330	188656	79764

Die Lymphozyten von Probanden der Gruppe 1 reagieren mittel-hoch, die der Gruppe 2 niedrig und die der Gruppe 3 hoch auf Stimulation mit Mitogenen.

Abkürzungen: n = Fallzahl; $\bar{x}$ = Mittelwert; SD = Standardabweichung; SpA = Protein A; Con A = Concanavalin A; PWM = Pokeweed Mitogen; PHA = Phytohämagglutinin.

Tabelle 11: Kontrollcluster - Lymphozytenreaktivität auf Antigene (counts/min)

Antigene	Gruppe 1 (n = 18)		Gruppe 2 (n = 49)		Gruppe 3 (n = 21)	
	$\bar{x}$	SD	$\bar{x}$	SD	$\bar{x}$	SD
Varidase	2377	1707	2167	2389	9429	12508
Tetanustoxoid	12102	13442	2597	3235	23287	27823
Diphtherietoxoid	5370	6902	1973	5215	36454	69109
Tuberkulin GT 1	1930	1445	1483	1265	5582	6185
Tuberkulin GT 10	2157	2007	1456	1255	5377	6626
Masernantigen	1512	969	1010	592	3527	437
Vacciniaantigen	2407	1376	1602	1101	12061	16606
Rötelnantigen	1481	1377	1281	1156	4541	6245
Antigencocktail	8548	10172	5834	7956	38063	31812

Die Lymphozyten von Probanden der Gruppe 1 reagieren mittel-hoch, die der Gruppe 2 niedrig und die der Gruppe 3 hoch auf Stimulation durch Antigene.

Abkürzungen: $\bar{x}$ = Mittelwert; SD = Standardabweichung; n = Fallzahl.

Tabelle 12: Statistische Signifikanzen der Unterschiede in der lymphozytären Reaktion auf Mitogene zwischen den Kontrollclustern.

		Gruppe 1/2	Gruppe 1/3	Gruppe 2/3
Mitogene	F	p <	p <	p <
SpA	6.9	0.003	n.s.	0.01
Con A (25 µg)	12.7	0.0005	0.005	0.01
Con A (12.5 µg)	25.2	0.0005	n.s.	0.00005
PWM	19.9	0.005	0.05	0.00005
PHA	16.8	0.00005	0.01	0.00005

Die drei Kontrollcluster unterscheiden sich in der lymphozytären Reaktion ihrer Probanden auf Stimulation durch Mitogene statistisch signifikant.

Abkürzungen: F = F-Wert; p = p-Wert; SpA = Protein A; Con A = Concanavalin A; PWM = Pokeweed Mitogen; PHA = Phytohämagglutinin

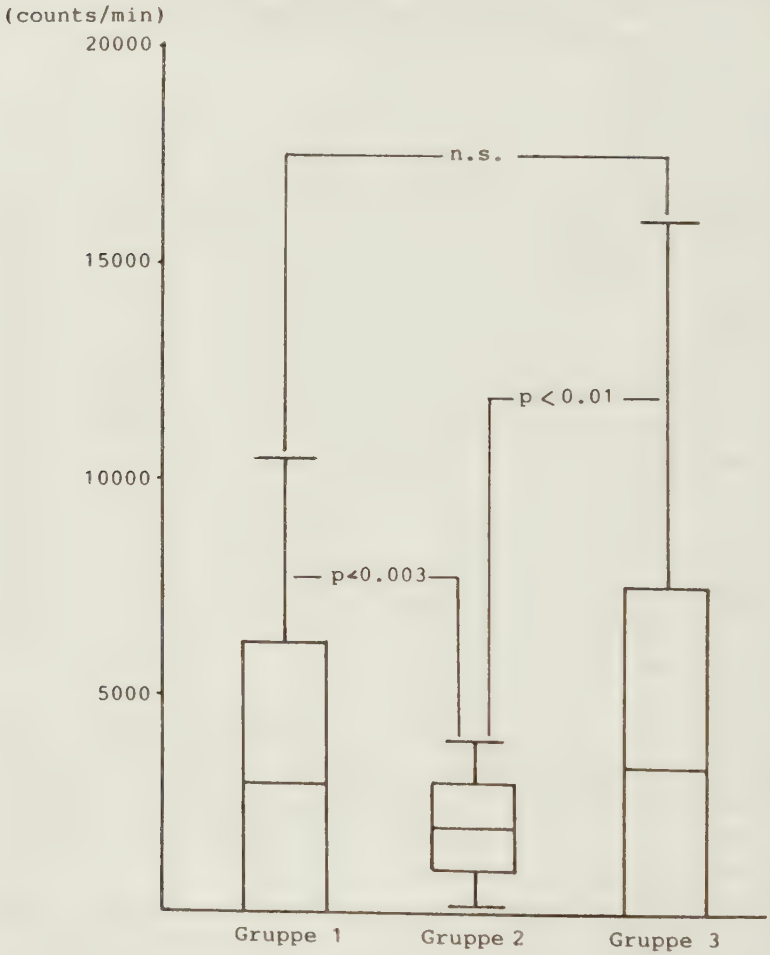
Tabelle 13: Statistische Signifikanzen der Unterschiede in der lymphozytären Reaktion auf Antigene zwischen den Kontrollclustern.

		Gruppe 1/2	Gruppe 1/3	Gruppe 2/3
Antigene	F	p <	p <	p <
Varidase	10.2	n.s.	0.01	0.01
Tetanustoxoid	14.4	0.005	n.s.	0.003
Diphtherietoxoid	7.9.	0.05	0.05	0.03
Tuberkulin GT 1	12.4	n.s.	0.003	0.005
Tuberkulin GT 10	9.5	n.s.	0.03	0.01
Masernantigen	9.6	0.05	0.05	0.01
Vacciniaantigen	12.8	0.03	0.01	0.005
Rötelnantigen	8.0	n.s.	0.03	0.03
Antigencocktail	27.1	0.02	0.0005	0.0005

Die lymphozytäre Reaktion der drei Kontrollcluster auf Stimulation durch Antigene unterscheidet sich statistisch signifikant, wobei sich die Gruppe 3 (Hochreagenten) stärker von den Gruppen 1 und 2 unterscheidet als diese beiden Gruppen sich von einander unterscheiden.

Abkürzungen: F = F-Wert; p = p-Wert; n.s. = nicht sig.

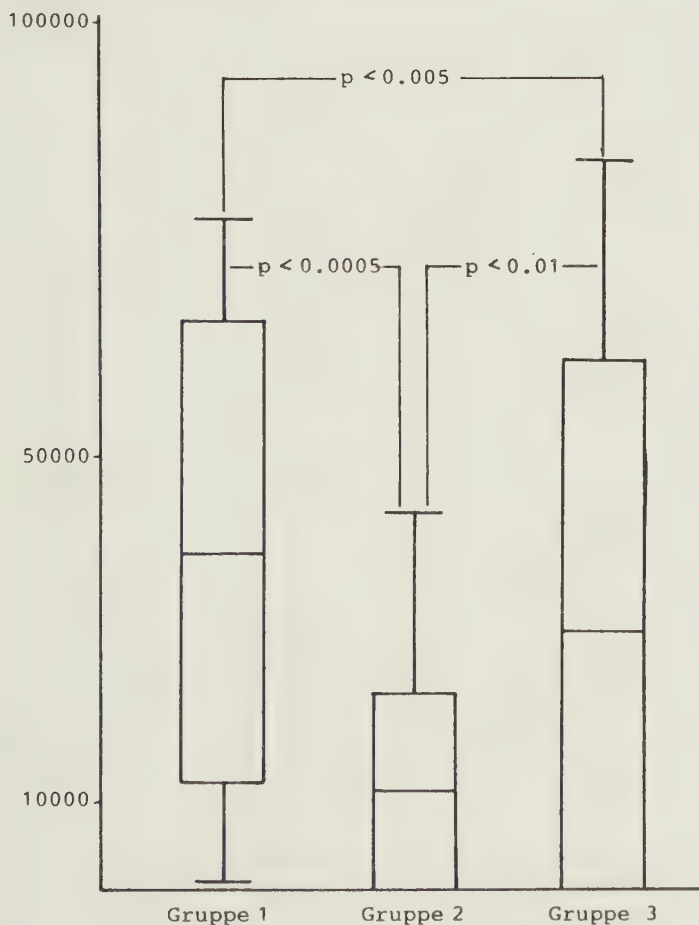
Abbildung 10: Kontrollcluster - Lymphozytenreaktivität auf Protein A (SpA)



Lymphozyten von Probanden der Gruppe 2 reagieren signifikant niedriger als die der beiden anderen Gruppen, die sich ihrerseits hinsichtlich ihrer Lymphozytenreaktivität auf Protein A nicht signifikant unterscheiden.

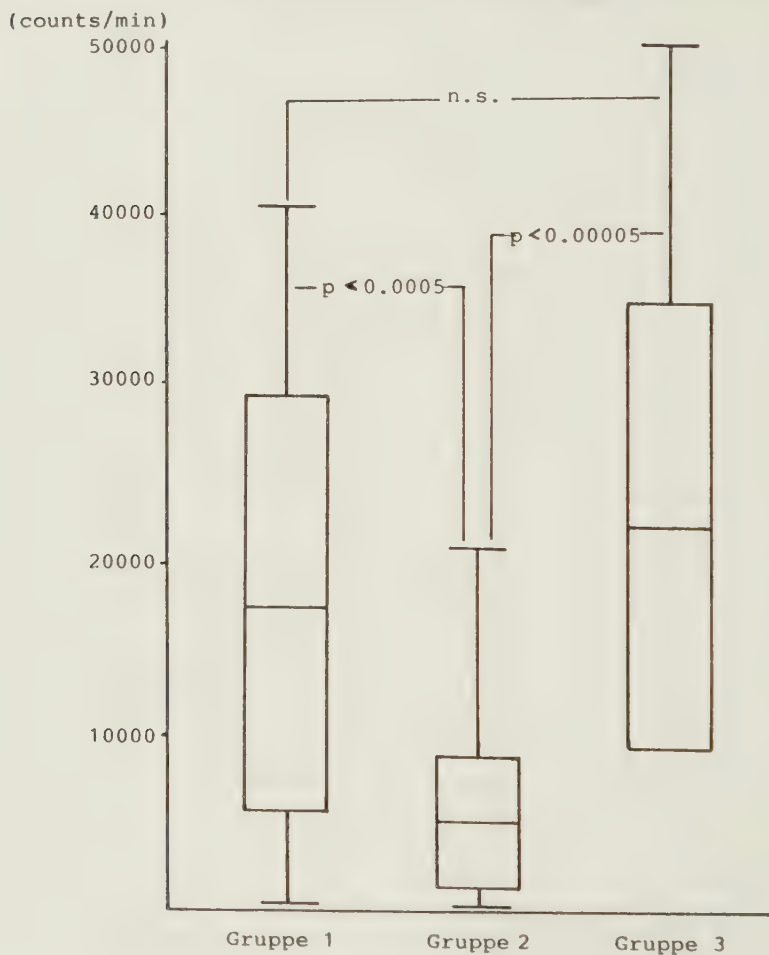
Abbildung 11: Kontrollcluster - Lymphozytäre Reaktion auf Concanavalin A (25 µg)

(counts/min)



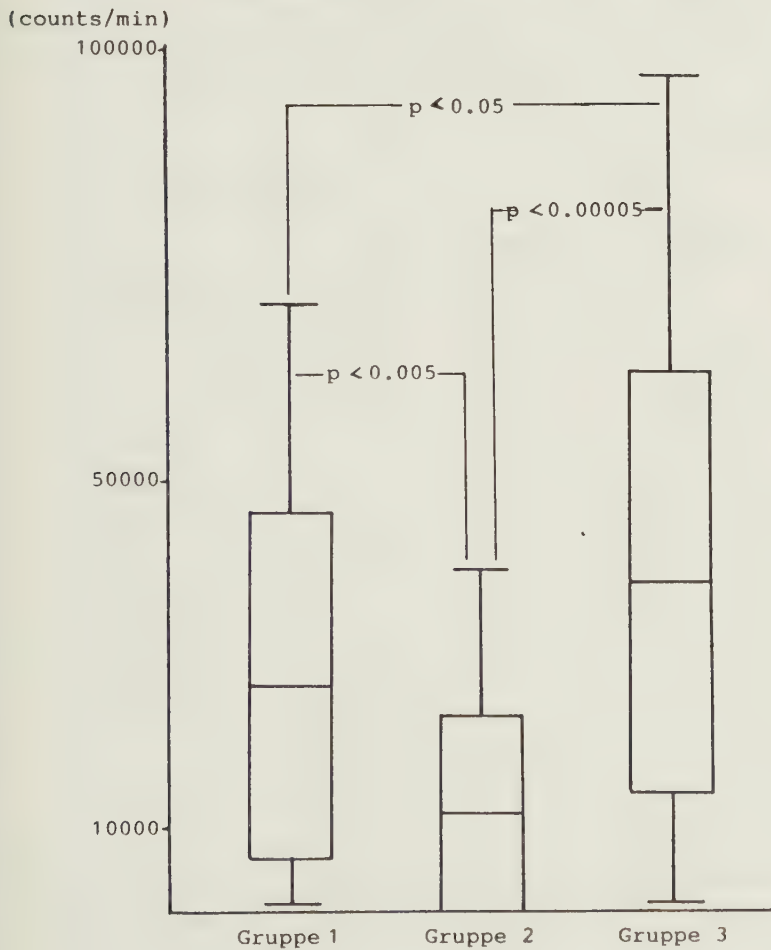
Die drei Gruppen unterscheiden sich hinsichtlich ihrer Lymphozytenaktivität auf Concanavalin A (25 µg) signifikant voneinander. Die Reaktivität der Gruppe 2 ist am niedrigsten.

Abbildung 12: Kontrollcluster - Lymphozytäre Reaktion auf Concanavalin A (12,5 µg)



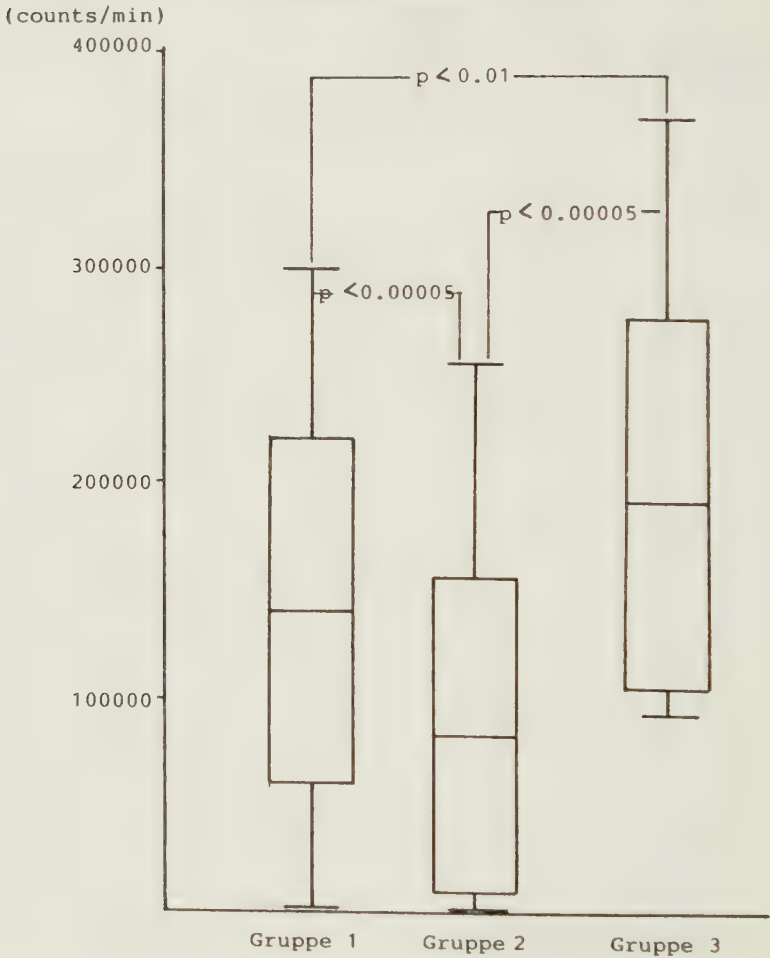
Die Lymphozytenreaktivität von Probanden der Gruppe 2 ist signifikant niedriger als die der beiden anderen Gruppen, die sich nicht signifikant voneinander unterscheiden.

Abbildung 13: Kontrollcluster - Lymphozytäre Reaktion auf Pokeweed Mitogen.



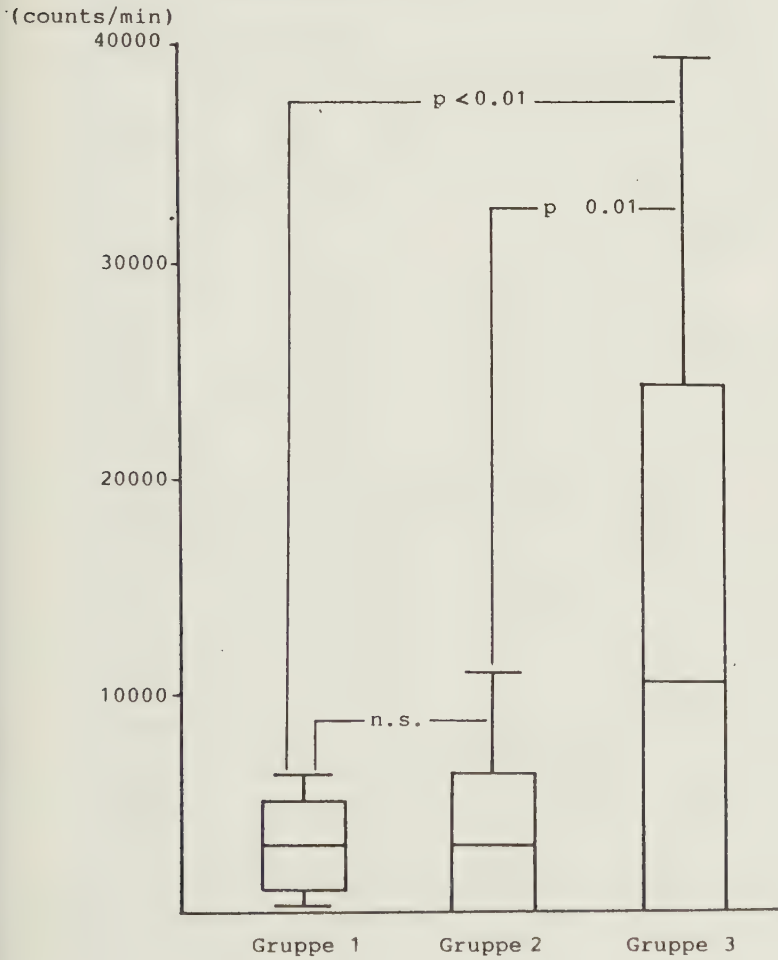
Die drei Gruppen unterscheiden sich signifikant hinsichtlich ihrer Lymphozytenreaktivität auf Pokeweed Mitogen, die in der Gruppe 2 am niedrigsten und in der Gruppe 3 am höchsten ist.

Abbildung 14: Kontrollcluster - Lymphozytäre Reaktion auf Phytohämagglutinin



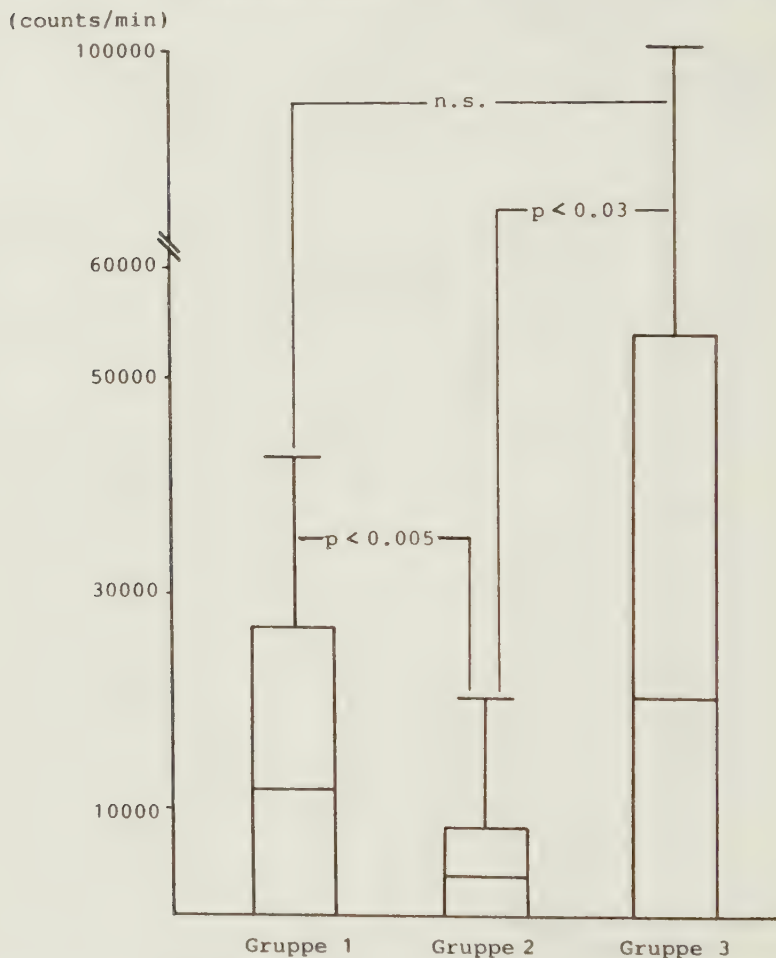
Die drei Gruppen unterscheiden sich signifikant hinsichtlich ihrer Lymphozytenreaktivität auf Phytohämagglutinin, die in der Gruppe 2 am niedrigsten und in der Gruppe 3 am höchsten ist.

Abbildung 15: Kontrollcluster - Lymphozytäre Reaktion auf Varidase



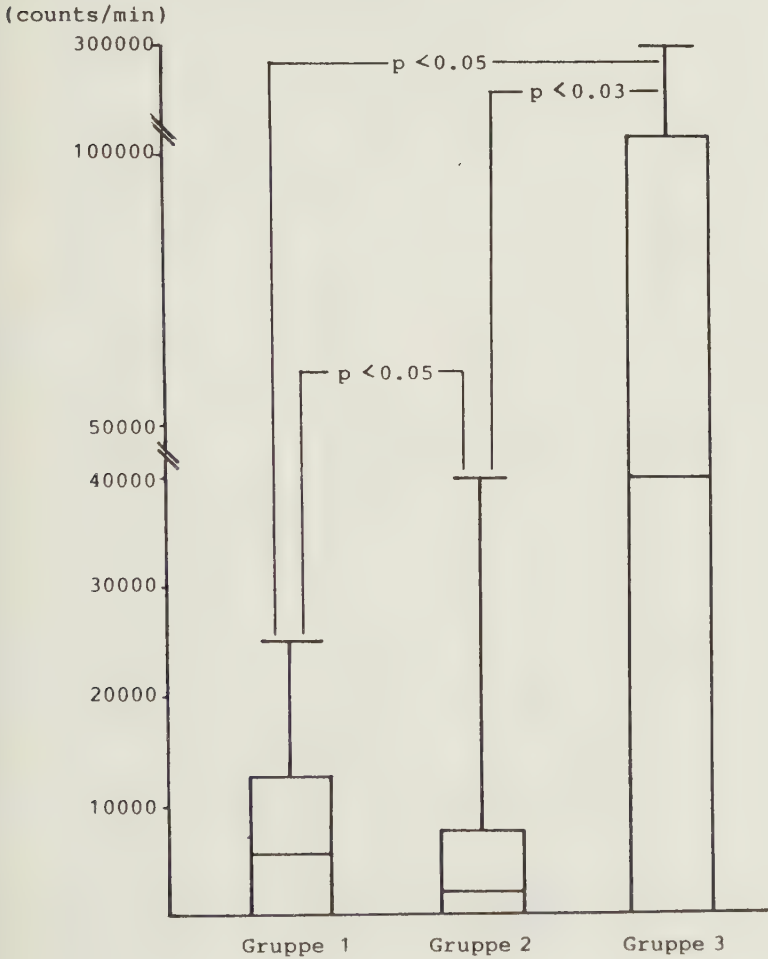
Lymphozyten von Probanden der Gruppe 3 reagieren signifikant höher auf Varidase als die von Probanden der anderen beiden Gruppen, die sich in ihrer Reaktivität nicht signifikant voneinander unterscheiden.

Abbildung 16: Kontrollcluster - Lymphozytäre Reaktion auf Tetanustoxoid



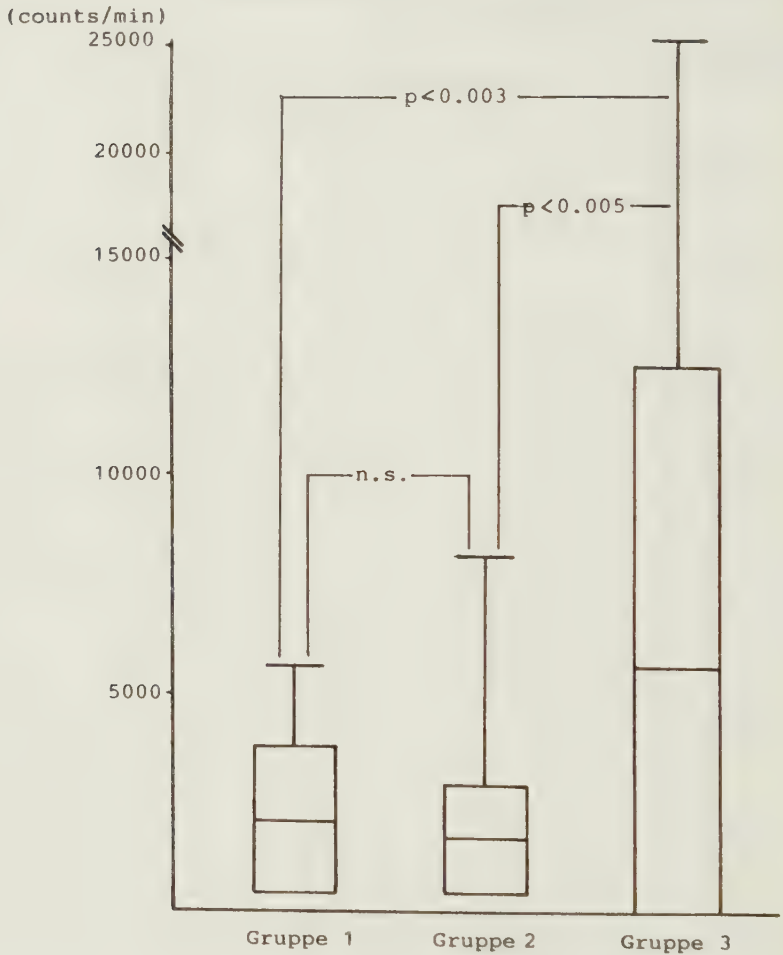
Die Lymphozytenreaktivität der Gruppe 2 ist in diesem Testsystem signifikant niedriger als die der beiden anderen Gruppen, die sich nicht signifikant voneinander unterscheiden.

Abbildung 17: Kontrollcluster - Lymphozytäre Reaktion auf Diphtherietoxoid



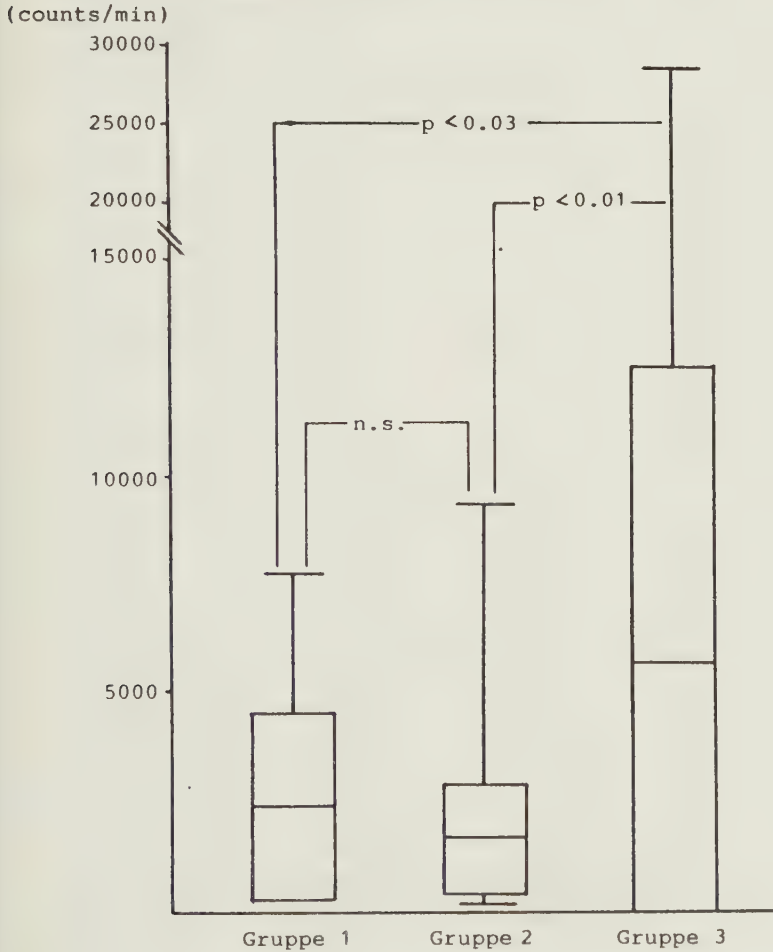
Die drei Gruppen unterscheiden sich in ihrer Lymphozytenreaktivität auf Diphtherietoxoid signifikant, wobei die Reaktivität in der Gruppe 2 am niedrigsten und in der Gruppe 3 am höchsten ist.

Abbildung 18: Kontrollcluster - Lymphozytäre Reaktion auf Tuberkulin GT 1



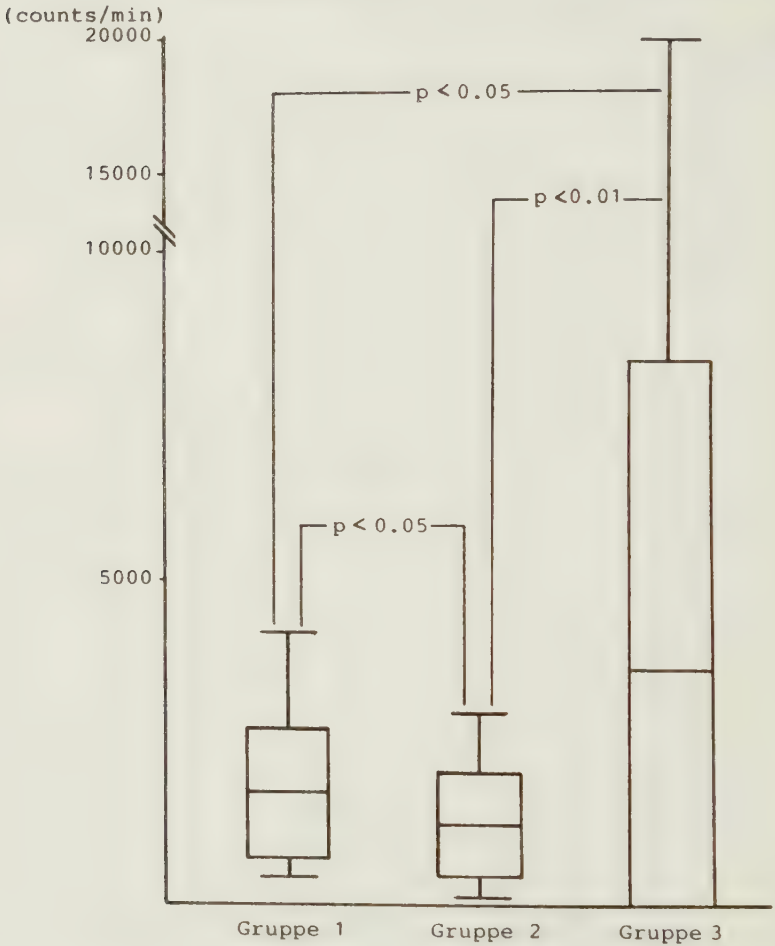
Die Lymphozyten von Probanden der Gruppe 3 reagieren signifikant höher auf Tuberkulin GT 1 als die von Probanden der beiden anderen Gruppen, die sich nicht signifikant voneinander unterscheiden.

Abbildung 19: Kontrollcluster - Lymphozytäre Reaktion auf
Tuberkulin GT 10



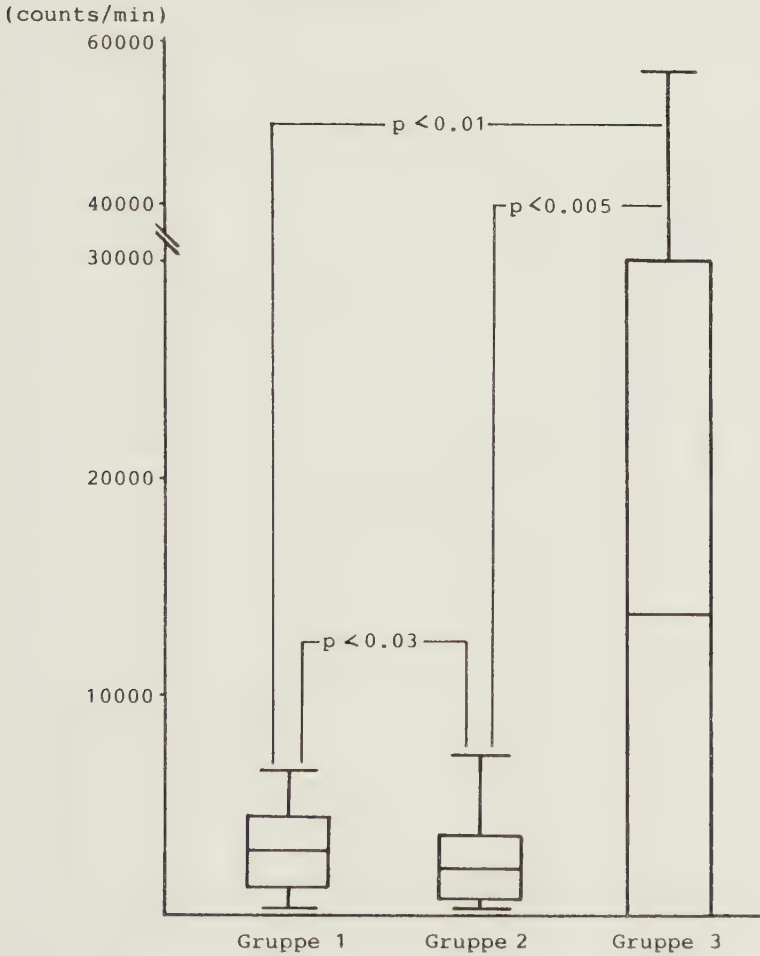
Die Lymphozytenreaktivität der Gruppe 3 ist signifikant höher als die der beiden anderen Gruppen, die sich hinsichtlich ihrer Reaktivität auf Tuberkulin GT 10 nicht signifikant unterscheiden.

Abbildung 20: Kontrollcluster - Lymphozytäre Reaktion auf Masernantigen



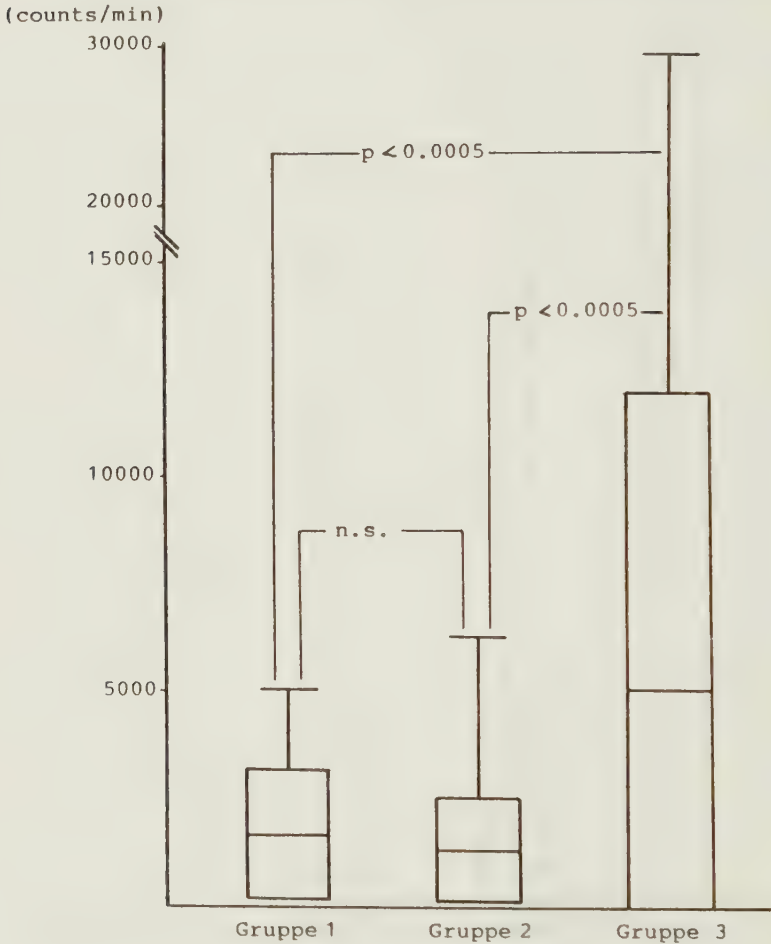
Die drei Gruppen unterscheiden sich hinsichtlich ihrer Lymphozytenreaktivität auf Masernantigen signifikant voneinander. Die Reaktivität ist in der Gruppe 2 am niedrigsten und in der Gruppe 3 am höchsten.

Abbildung 21: Kontrollcluster - Lymphozytäre Reaktion auf Vacciniaantigen



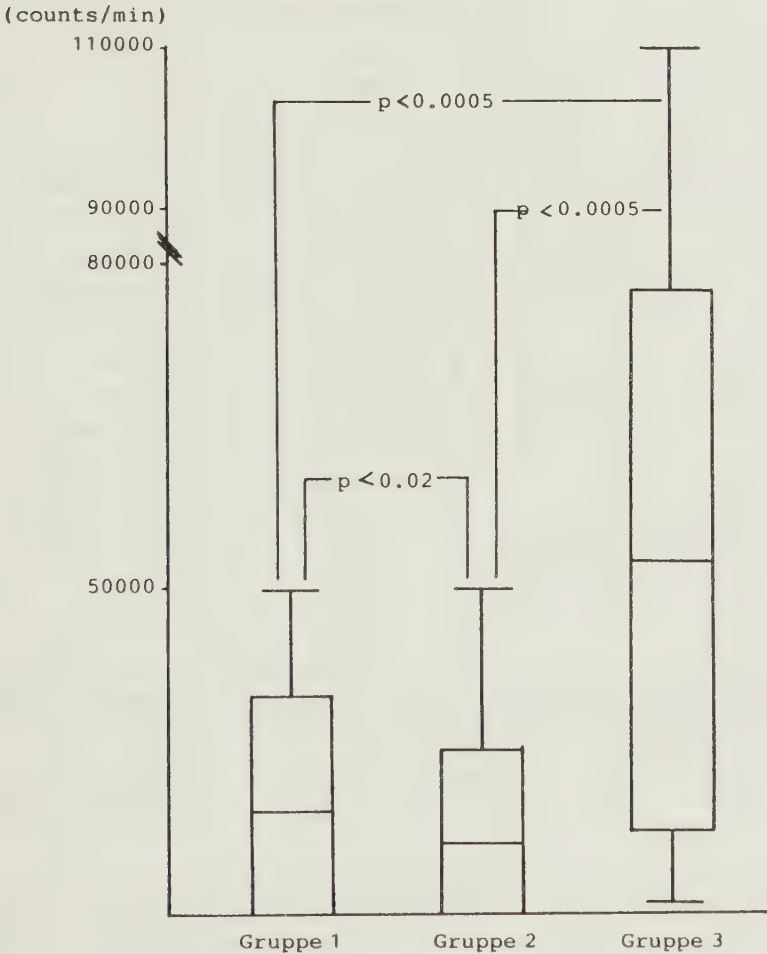
Die drei Gruppen unterscheiden sich in ihrer Lymphozytenreaktivität auf Vacciniaantigenen signifikant voneinander. Die Reaktivität ist in der Gruppe 2 am niedrigsten und in der Gruppe 3 am höchsten.

Abbildung 22: Kontrollcluster - Lymphozytäre Reaktion auf Rötelnantigen



Die Lymphozyten von Probanden der Gruppe 3 reagieren signifikant höher auf Rötelnantigen als die von Probanden der beiden anderen Gruppen, die sich nicht signifikant voneinander unterscheiden.

Abbildung 23: Kontrollcluster - Lymphozytäre Reaktion auf Antigencocktail



Die drei Gruppen unterscheiden sich signifikant hinsichtlich ihrer Lymphozytenreaktivität auf den Antigencocktail. Die Reaktivität ist in Gruppe 2 am niedrigsten und in Gruppe 3 am höchsten.

Tabelle 14: Kontrollcluster - Suppressorzellaktivität

	Gruppe 1 (n = 18)		Gruppe 2 (n = 49)		Gruppe 3 (n = 21)	
Testsystem	$\bar{x}$	SD	$\bar{x}$	SD	$\bar{x}$	SD
SpA	27 %	36 %	36 %	41 %	29 %	41 %
PWM	29 %	38 %	32 %	40 %	53 %	35 %
PHA	41 %	37 %	26 %	35 %	36 %	34 %
MLC	63 %	33 %	51 %	37 %	62 %	29 %

Es besteht kein signifikanter Unterschied in der Suppressorzellaktivität zwischen den drei Kontrollclustern.

Abkürzungen: $\bar{x}$ = Mittelwert; SD = Standardabweichung; SpA = Protein A; PWM = Pokeweed Mitogen; PHA = Phytohämagglutinin; MLC = gemischte Lymphozytenkultur

Tabelle 15: Kontrollcluster - T-Zellsubpopulationen (absolute Zahl/ μ l und prozentualer Anteil).

	Gruppe 1 (n = 18)		Gruppe 2 (n = 49)		Gruppe 3 (n = 21)	
	$\bar{x}$	SD	$\bar{x}$	SD	$\bar{x}$	SD
Lymphozyten	1967	491	2132	586	2279	621
T-Zellen	1092	378	1061	322	1027	465
T- Helferzellen	635	317	657	215	581	362
T-Suppressor-/ zytotox. T-Zellen	476	178	479	189	554	277
T-Zellen gesamt (OKT 3)	45 %	16 %	43 %	13 %	38 %	17 %
T-Helferzellen (OKT 4)	28 %	13 %	27 %	8 %	22 %	13 %
T-Suppressor-/ zytotox. T-Zellen (OKT 8)	20 %	7 %	19 %	8 %	21 %	9 %
OKT 4/OKT 8	1.4	0.9	1.4	0.7	1.0	0.6

Die Zahl der Lymphozyten, T-Zellen und deren Subpopulationen pro Mikroliter im peripheren Blut zeigt keine wesentlichen Unterschiede zwischen den drei Clustern.

Die relativen Anteile der T-Zellen und ihrer Subfraktionen sowie das OKT 4/8-Verhältnis zeigen ebenfalls keine wesentlichen Unterschiede.

Abkürzungen: $\bar{x}$ = Mittelwert; SD = Standardabweichung

4.2.2. Diskussion:

Die Clusteranalyse zeigt, daß unser Kontrollkollektiv aus drei Gruppen besteht, die sich immunfunktionell hinsichtlich ihrer lymphozytären Reaktion auf Mitogene und Antigene deutlich voneinander unterscheiden.

Die Gruppen lassen sich wie folgt klassifizieren:

1. Die Mitglieder der Gruppe 2, der größten der Untersuchung ($n = 49$), sind Niedrigreagenten.
2. Die Mitglieder der Gruppe 1, einer kleinen ($n = 18$), sind Mittelhochreagenten.
3. Die Mitglieder der Gruppe 3, ebenfalls einer kleinen ($n = 21$), sind Hochreagenten.

Die Klassifikation erfolgte also auf Grund ihrer lymphozytären Reaktion.

Über die Gruppenzugehörigkeit eines Probanden entscheiden bei der Multivarianzanalyse nicht einzelne Meßwerte, sondern die Summe aller zwischen den Clustern differenten Parameter, in unserer Untersuchung die vierzehn getesteten Mitogen- und Antigen-systeme. Die Zuordnung eines einzelnen Probanden beruht also nicht auf der Stärke der Stimulation durch einzelne Mitogene oder Antigene, sondern sie dürfte durch die allgemeine Reaktionsbereitschaft seiner Lymphozyten bedingt sein.

Die übrigen von uns bestimmten Parameter (Suppressorzell-aktivität, absolute und relative Zahlen von Lymphozyten, T-Zellen und T-Zellsubpopulationen, OKT 4/OKT 8-Verhältnis) tragen nicht zur Diskriminierung der Cluster bei. Diese Tatsache läßt darauf schließen, daß die unterschiedliche Reaktionsbereitschaft der Lymphozyten funktionelle Ursachen

hat.

Die Frage ist nun, welche Wertigkeit die Ergebnisse unserer Clusteranalyse haben. Daher ist eine kritische Betrachtung der Methode unumgänglich. Die Clusteranalyse ist ein hauptsächlich beschreibendes Verfahren, keine schließende Statistik. Man sollte generell nicht von der Vorstellung ausgehen, daß die durch die Clusteranalyse gewonnene Unterteilung unseres Normalprobandenkollektivs eine "natürliche" oder "absolut richtige" Klassifikation ist. Vielmehr sollte man die Klassifikation als "brauchbar" oder "unbrauchbar" beurteilen. Um die "Brauchbar-" oder "Unbrauchbarkeit", somit die Relevanz und die statistische Validität der Clusteranalyse zu überprüfen, kann man wieder auf schließende statistische Verfahren zurückgreifen (106). Zur Überprüfung unserer Ergebnisse verglichen wir die Unterschiede zwischen den Mittelwerten des Clusters und der Gesamtvariabilität für alle getesteten Parameter mit Hilfe des F-Tests und des t-Tests für unverbundene Stichproben ungleicher Varianz. Die Kontrolle der Clusteranalyse ergab statistisch signifikante Unterschiede bei allen Mitogen- und Antigen systemen. Dagegen war dies bei den Suppressorzellaktivitäten, den Lymphozytenzahlen und den -subpopulationen nicht der Fall.

Zusammenfassend läßt sich also sagen, daß zwischen den drei in der Clusteranalyse gefundenen Gruppen statistisch signifikante Unterschiede bestehen, unser Normalprobandenkollektiv kann daher nicht mehr als homogene Einheit betrachtet werden.

Eine gewisse Problematik unserer Analyse liegt darin, daß zur Bildung der Cluster und anschließend zur Prüfung der Unterschiede die Daten der gleichen Probanden verwendet wurden, also eine interne Validierung vorgenommen wurde. Da uns eine unabhängige Stichprobe für diese Überprüfung nicht

zur Verfügung stand, teilten wir das Gesamtkollektiv nach der "jack knife"-Methode zufällig in zwei Teile. Bei dieser Methode wird mit dem einen Teil der Probanden die Clusteranalyse durchgeführt, deren Ergebnisse anschließend mit den Daten des anderen Teils in Diskriminanzanalysen validiert werden. Auch mit diesem Verfahren erhielten wir drei sich voneinander hochsignifikant unterscheidende Cluster, was als Bestätigung der Ergebnisse der Clusteranalyse für das gesamte Kontrollkollektiv gelten kann. Außerdem wurde damit die Reproduzierbarkeit des Verfahrens bewiesen.

Zum Abschluß sei noch einmal wiederholt: die Clusteranalyse, überprüft durch F-, t-Test und "jack knife"-Methode, lieferte als eindeutiges Ergebnis, daß es innerhalb eines Kollektivs von 88 gesunden Personen mindestens drei Gruppen existieren, die sich hinsichtlich der Funktion ihrer Lymphozyten und damit einem Teil ihres Immunsystems deutlich voneinander unterscheiden. Ihr immunfunktionelles Verhalten könnte diese Gruppen möglicherweise zu Risikokollektiven für verschiedene Krankheiten werden lassen (56,57).

4.3. Myokarditis:

4.3.1. Ergebnisse:

4.3.1.1. Mitogen- und Antigenstimulation:

Ein Vergleich der quantitativen Ergebnisse in den Einzelsystems der Mitogen- und Antigenstimulation zwischen Patienten (Tab. 4, S.31 und Tab. 5, S.34) und den drei Clustern des Kontrollkollektivs (Tab. 10, S.54 und Tab. 11, S.55) zeigt, daß die Lymphozyten der Myokarditispatienten in vierzehn von vierzehn Testsystemen signifikant höher reagieren als die der Niedrigreagentengruppe 2 (p - Werte zwischen $p < 0.05$ und $p < 0.00005$).

Im Vergleich zur Hochreagentengruppe 3 lag die lymphozytäre

Reaktivität in fünf von vierzehn Testsystemen niedriger als die dieser Kontrollgruppe (p-Werte zwischen $p < 0.05$ und $p < 0.01$).

Die größte Ähnlichkeit bestand zwischen der Patientengruppe und der Mittelhochreagentengruppe 1. Die Lymphozytenreaktivität stimmt hier in elf von vierzehn Testsystemen mit der Kontrollgruppe überein. Nur in den drei Testsystemen Vari-dase ($p < 0.01$), Tuberkulin GT 1 ($p < 0.001$) und Antigencock-tail ($p < 0.003$) zeigte sich eine signifikant höhere Lympho-zytenreaktivität (siehe Tab. 16, S.78).

In ihrer lymphozytären Reaktion auf Stimulation durch Mito-gene und Antigene verhielt sich die Patientengruppe also im wesentlichen analog zum Cluster 1, der die Mittelhochreagen-ten des Kontrollkollektivs umfaßt. In der Clusteranalyse wurden tatsächlich alle von uns untersuchten Patienten mit Myokarditis diesem Cluster 1 zugeordnet.

Tabelle 16: Mitogen- und Antigenstimulation - Statistische Signifikanzen der Unterschiede zwischen Kontrollclustern und Myokarditis.

Myokarditis gegen	Cluster 1	Cluster 2	Cluster 3
Testsystem	p<	p<	p<
Mitogene			
Protein A	n.s.	0.0005	n.s.
Concanavalin A (25 µg)	n.s.	0.0005	n.s.
Concanavalin A (12.5 µg)	n.s.	0.0005	0.05
Pokeweed Mitogen	n.s.	0.00005	0.03
Phytohämagglutinin	n.s.	0.005	0.01
Antigene			
Varidase	0.01	0.005	n.s.
Tetanustoxoid	n.s.	0.03	0.01
Diphtherietoxoid	n.s.	0.003	n.s.
Tuberkulin GT 1	0.001	0.00005	n.s.
Tuberkulin GT 10	n.s.	0.01	n.s.
Masernantigen	n.s.	0.005	n.s.
Vacciniaantigen	n.s.	0.01	0.03
Rötelnantigen	n.s.	0.05	n.s.
Antigencocktail	0.003	0.00005	n.s.

Die Lymphozytenreaktivität der Myokarditisgruppe ist der des Mittelhochreagentenclusters 1 am ähnlichsten.

4.3.1.2. Suppressorzellaktivität:

Die quantitativen Ergebnisse für die Patientengruppe sind der Tabelle 6, S.38, die der Kontrollcluster der Tabelle 14, S.72 zu entnehmen.

Die Suppressorzellaktivität der Myokarditisgruppe war in der gemischten Lymphozytenkultur gegenüber allen drei Clustern, wie auch schon gegenüber dem Gesamtkollektiv höchst signifikant erniedrigt ($p < 0.00005$).

Im Pokeweed Mitogen-System fanden wir bei der Patientengruppe eine signifikant erniedrigte Suppressorzellaktivität ($p < 0.01$) gegenüber der Hochreagentengruppe 3, die sich gegenüber dem Gesamtkollektiv noch nicht zeigte. Im Vergleich zu den Gruppen 1 und 2 ergaben sich keine Differenzen. Der Unterschied der Myokarditisgruppe zum Cluster 3 verdeutlicht die Verschiedenheit der Gruppen.

Gegenüber dem Niedrigreagentencluster 2 war die Suppressorzellaktivität im Protein A-System signifikant vermindert, sie verhielt sich jedoch analog zu denen der beiden anderen Cluster.

Kein Unterschied zwischen den Suppressorzellaktivitäten von Myokarditis- und Kontrollgruppen war im PHA-System nachweisbar (siehe Tabelle 17)

4.3.1.3. T-Zellsubpopulationen:

Die quantitativen Ergebnisse der Myokarditisgruppe sind aus den Tabellen 7, S.41 und 8, S.42 zu entnehmen, die der Kontrollcluster aus der Tabelle 15, S.73.

Die absoluten Zahlen der Lymphozyten im peripheren Blut, der T-Zellen und ihrer Subpopulationen sowie die relativen Anteile der Zellkompartimente und das daraus berechnete OKT 4/OKT 8-Verhältnis zeigten keine signifikanten Unterschiede zwischen der Myokarditisgruppe und den drei Kontrollclustern. Dies bestätigt, wie schon im Vergleich mit dem gesamten Kontrollkollektiv deutlich wurde, daß diese

Parameter bei Patienten mit Myokarditis normal sind.

Tabelle 17: Suppressorzellaktivität (%) - Signifikanz der Unterschiede zwischen Kontrollclustern und Myokarditiden (MC).

Myokarditis gegen	Cluster 1	Cluster 2	Cluster 3
Testsystem	p <	p <	p <
Protein A	n.s.	0.01	n.s.
Pokeweed Mitogen	n.s.	n.s.	0.01
Phytohämagglutinin	n.s.	n.s.	n.s.
gemischte Lymphozytenkultur	0.0005	0.00005	0.00005

Die Myokarditisgruppe zeigt eine gegenüber den Kontrollclustern erniedrigte Suppressorzellaktivität, wobei die Unterschiede zum Mittelhochreagentencluster 1 am geringsten sind.

4.3.2. Diskussion:

Im Gegensatz zu den konventionellen mathematischen Methoden, die Gruppen miteinander vergleichen, können mit Hilfe der Clusteranalyse einzelne Probanden einer Gruppe zugeordnet oder von ihr unterschieden werden. Hierin liegt der besondere Wert der Clusteranalyse, die es gestattet, die einzelnen Angehörigen einer Gruppe als ähnlich oder different zu erkennen. Alle von uns untersuchten Patienten mit Myokarditis wurden in der Clusteranalyse dem Mittelhochreagentencluster 1 zugeordnet, zeigen also ein mittelhohes Reaktionsverhalten auf mitogene und antigene Reize *in vitro*. Sie haben normale Blutlymphozytenzahlen, relative wie absolute T-Zell- und T-Zellsubpopulationskompartimente und ein normales OKT 4/8-Verhältnis. Sie unterscheiden sich also genauso wie der Cluster 1 von den beiden anderen Clustern, sind also dem Cluster 1 gleichzustellen. Den einzigen Unterschied zu den gesunden Probanden, die diesem Cluster angehören, stellt die signifikant erniedrigte Suppressorzellaktivität dar.

Analoge Ergebnisse wurden auch bei der Untersuchung von Patienten mit dilatativer Kardiomyopathie erzielt, was auf eine immunfunktionelle Ähnlichkeit zwischen Myokarditis und dilatativer Kardiomyopathie hinweist. Daher darf man diese beiden Erkrankungen nicht getrennt sehen, sondern muß sogar annehmen, daß die dilatative Kardiomyopathie eine Folgeerkrankung der Autoaggressionsmyokarditis ist (58). Wegen der großen immunfunktionellen Ähnlichkeit der Myokarditisgruppe mit dem Cluster 1, könnten also die Angehörigen mit einer niedrigen Suppressorzellaktivität der Mittelhochreagentengruppe 1 als Risikokollektiv für diese Krankheit betrachtet werden. Vielleicht sind es gerade eben diese Personen, die bei Befall mit Cocksackie-B-Viren an einer Autoaggressionsmyokarditis erkranken, in deren Gefolge eine dilatative Kardiomyopathie entstehen kann (27, 95, 221). Die Vermin-

derung der Suppressorzellaktivität könnte Ausdruck einer genetisch determinierten Variante des Immunsystems sein, die zu einer inadäquaten Reaktion des Immunsystems führt.

Die Hypothese von Fudenberg (70), daß allen Autoaggressionskrankheiten eine genetisch determinierte Störung einer Lymphozytenpopulation, nämlich der T-Suppressorzellen zugrunde liegt, müßte dahingehend ergänzt werden, daß die angenommene genetische Disposition jedoch erst beim Kontakt des Immunsystems mit bestimmten Agentien, in unserem Fall Coxsackie-B-Viren, pathogenetisch wirksam wird.

Die Clusteranalyse könnte auch als weiterer Punkt zur diagnostischen Sicherung und zur Therapie einer Autoaggressionsmyokarditis dienen. Wie schon am Anfang der Diskussion bemerkt, besteht der besondere Wert der Clusteranalyse in der Möglichkeit einzelne Probanden einer Gruppe zuzuordnen. Bei klinischem Verdacht auf Myokarditis, angedeutet durch subjektive Symptome, Ekg-Veränderungen in typischer Weise und eventuell Zeichen der Lungenstauung und Kardiomegalie im Röntgenbild (siehe 2.1.1.), müßte man von diesen Patienten Lymphozyten gewinnen und einen Mitogen-/Antigenstimulationsansatz, sowie einen Suppressorzellansatz durchführen. Durch diese Ansätze würde man drei Kriterien zur Diagnosesicherung überprüfen, nämlich das lymphozytäre Reaktionsmuster in der Mitogen- und Antigenstimulation, die eventuell erniedrigte Suppressorzellaktivität und nach durchlaufen des Computerprogramms die eventuelle Zugehörigkeit zum Mittelhochreagentencluster 1 unserer Clusteranalyse. Sollte sich bestätigen, daß der getestete Proband erhöhte lymphozytäre Reaktionen in den Antigensystemen Masernantigen, Varidase und Antigencocktail zeigt und eine erniedrigte Suppressorzellaktivität besitzt und dem Mittelhochreagentencluster 1 angehört, darüber hinaus noch ein erhöhter Coxsackie-B-Virustiter nachzuweisen ist, so wäre zu diskutieren, ob nicht gleich nach Abklingen des Virustiters mit einer immunsuppressiven

Therapie begonnen werden sollte, da diese Anhäufung von Befunden auf das Vorliegen eines autoaggressiven Geschehens deuten. Die auch nicht immer alles beweisende, sehr invasive Myokardbiopsie könnte dann eventuell sogar unterlassen werden.

5. Zusammenfassende Diskussion der Ergebnisteile 1 und 2

Mit der Durchführung immunologischer In-vitro-Untersuchungen und der Überprüfung der dadurch anfallenden Ergebnisse durch biomathematische Analysen ist es uns gelungen, ein Testsystem zu entwickeln, die Myokarditis hinsichtlich ihrer lymphozytären Reaktivität zu charakterisieren und jeden Einzelproband anhand seiner immunologischen Parameter einzuordnen. Dies gelang auch in einer gleichzeitig durchgeführten Untersuchung für die dilatative Kardiomyopathie (58).

Die Myokarditis weist, wie unsere Untersuchungen zeigen, ein charakteristisches lymphozytäres Reaktionsverhalten in vitro auf, welches die Abgrenzung dieser Erkrankung mit relativ einfachen immunologischen Methoden erlaubt.

Der im Ergebnisteil 1 dargestellte Befund einer erniedrigten Suppressorzellaktivität bei Patienten mit Myokarditis im Vergleich zu einem Kontrollkollektiv wird durch die Ergebnisse der Clusteranalyse im Teil 2 bestätigt. Darüber hinaus führt die Multivarianzanalyse zu der durch weitere statistische diskriminanzanalytischen Methoden abgesicherten Erkenntnis, daß sich unter unseren 88 gesunden Probanden drei Gruppen deutlich voneinander unterscheiden lassen. Jede dieser drei durch ihre lymphozytäre Reaktion gegen Mitogene und Antigene charakterisierte Gruppen ist bezüglich dieser Parameter in sich homogen, jedoch hoch different gegenüber den beiden anderen Gruppen.

Da die Zuordnung eines Probanden zu einem Cluster (= Gruppe) von der Übereinstimmung der Reaktion in vierzehn Mitogen- und Antigentestsystemen abhängt, kann dies als Ausdruck einer allgemeinen Reaktionsfähigkeit oder Reaktionsbereitschaft der Lymphozyten angesehen werden. Da die absoluten Zahlen und die relativen Anteile der Lymphozyten und ihrer Subpopulationen in allen Clustern fast gleich sind, dürften demnach die Unterschiede in der Stärke der Immunreaktion funktionelle Ursachen haben.

Wir fanden einen großen Cluster von niedrig reagierenden Probanden sowie zwei kleinere Cluster mit mittelhoher und hoher Reaktivität innerhalb unseres Normalprobandenkollektivs. Alle von uns untersuchten Patienten mit Myokarditis wurden in der Clusteranalyse dem mittelhoch reagierendem Cluster zugeordnet, wobei sie sich von dieser Gruppe nur durch eine niedrige Suppressorzellaktivität unterscheiden.

Die Problematik der Übertragung von In-vitro-Befunden auf die Verhältnisse wurde bereits an anderer Stelle diskutiert (siehe 3.4.).

Unter der Annahme, daß die in unserer Untersuchung nachgewiesene niedrige Suppressorzellaktivität bei Patienten tatsächlich vorhanden ist, deutet dieser Befund in Zusammenhang mit dem Nachweis verstärkter Immunglobulinbindung an Herzmuskelgewebe auf ein autoaggressives Geschehen hin (18, 19).

Niedrige Suppressorzellaktivität, die von Fowles (70) als Ursache aller Autoaggressionskrankheiten angenommen wurde, konnte inzwischen bei autoaggressiven Prozessen nachgewiesen werden (20, 93).

Für die Beteiligung autoaggressiver Mechanismen bei einem

Teil der entzündlichen Herzmuskelerkrankungen sprechen auch die bisherigen Erfahrungen mit immunsuppressiver Behandlung dieser Krankheiten. Zwar gelang es, Myokarditiden mit einer derartigen Therapie zum Abheilen zu bringen (112, 174), was in diesen Fällen auf eine Autoaggression hinwies, andererseits wurden auch in einigen Fällen ungünstige Einflüsse von Immunsuppressiva auf den Krankheitsverlauf beobachtet (112), die wahrscheinlich aus der Unterdrückung normaler Abwehrreaktionen des Körpers gegen eine Virusinfektion resultieren. Deshalb wurde eine Unterscheidung zwischen Herzmuskelerkrankungen mit niedriger Suppressorzellaktivität, denen möglicherweise eine Autoaggression gegen Myokardgewebe zugrunde liegt, und anderen, vom klinischen Bild her ähnlichen Krankheiten gefordert (53). Die Autoaggression bei der Myokarditis wurde unterdessen schon im Tierversuch bewiesen (95). Die Feststellung einer niedrigen Suppressorzellaktivität könnte also die Entscheidung für den Einsatz immunsuppressiver Medikamente erleichtern.

Unsere Patienten mit Myokarditis hatten hinsichtlich der immunologischen Parameter sehr große Ähnlichkeit mit Patienten, die an einer dilatativen Kardiomyopathie erkrankt waren (58). Dies weist auf die Gemeinsamkeiten in der Pathogenese der Erkrankungen bzw. auf das Entstehen der einen aus der anderen hin. Die Genese würde folgendermaßen ablaufen:

Ein Organismus wird von Coxsackie-B-Viren befallen und bildet auf Grund seiner niedrigen Suppressorzellaktivität inadäquat zu viele Antikörper, die sich gegen gesundes Herzmuskelgewebe richten. Wird dieser Mechanismus nicht durch eine immunsuppressive Therapie unterbunden, so kommt es in der Folge zur Zerstörung von Herzmuskelgewebe mit nachfolgender Dilatation, die dann auf Grund ungenügender Pumpleistung des Herzens Todesursache oder Indikation zu einer Herztransplantation sein kann.

Der Vorteil oder der Mehrwert der Clusteranalyse gegenüber den konventionellen statistischen Methoden liegt in der Möglichkeit, Aussagen über die Zuordnung einzelner Probanden zu treffen. Wenn nun, wie in unserer Untersuchung, alle Patienten dem Mittelhochreagentencluster zugeordnet werden können, so ist das als Beweis für die große immunfunktionelle Ähnlichkeit sowohl der Patienten untereinander wie auch zwischen Patienten und den Kontrollprobanden dieses Clusters zu werten. Wegen dieser Ähnlichkeit von Patienten und Normalprobanden kann der Schluß gezogen werden, daß die gesunden Personen des Clusters 1, insbesondere die mit einer niedrigen Suppressorzellaktivität, möglicherweise ein besonderes Risiko tragen, an einer Autoaggressionsmyokarditis zu erkranken.

IMMUNGENETISCHER ANHANG

6. Hinweis auf eine genetische Determination der Immunfunktion beim Menschen

6.1. Einleitung

6.1.1. Allgemeines

Als eine der Ursachen für die Resistenz gegenüber Erregern, die für andere Spezies pathogen sind, sowie für unterschiedliche Krankheitsverläufe bei Angehörigen verschiedener Rassen werden seit langem auch genetische Faktoren diskutiert. Im Tierexperiment konnte eine genetisch determinierte Kontrolle der Immunreaktion bei einigen Tierarten bereits nachgewiesen werden (11).

6.1.2. Ir-Gene

Untersuchungen an Meerschweinchen zeigten, daß durch definierte Antigene bei Tieren aus verschiedenen Inzuchtstämmen unterschiedlich starke Immunreaktionen hervorgerufen werden (17, 101). Das führte zu der These, daß beim Meerschweinchen die Immunantwort von bestimmten Genen, den sogenannten Ir-Genen (Ir = immune response) kontrolliert wird. Sind im Genom eines Inzuchtstammes die entsprechenden spezifischen Ir-Gene vorhanden, dann kommt es bei Antigenkontakt zu einer deutlichen Immunreaktion, die Tiere sind also "high responder". Fehlen die spezifischen Ir-Gene jedoch, dann zeigen die Tiere keine oder nur schwache Reaktionen ("low responder").

Zu ähnlichen Ergebnissen führten auch Untersuchungen an Mäusen (130), Ratten (4, 85) und Rhesusaffen (43). Bei der Maus werden die Immunreaktionen zumindest gegen einige Antigene durch zwei komplexe Ir-Gene gesteuert, die beide vorhanden sein müssen, um eine Reaktion zu ermöglichen. Die Immunantwort bleibt aus, wenn eines der beiden Gene fehlt (44, 138, 143, 229).

Genprodukte der Ir-Gene sind Ia-Antigene, die auf der Oberfläche von B-Lymphozyten und Makrophagen mit spezifischen Antikörpern nachweisbar sind (6, 114). Die Ia-Antigene sind Glykoproteine, die aus je einer Alpha- und Beta-Kette (Molekulargewicht 30000 bzw. 28000) zusammengesetzt sind (11).

Die Ir-Gene aller untersuchten Tierspezies befinden sich in enger räumlicher Beziehung zu den Histokompatibilitätsgenen, welche für die Abstoßungsreaktion des Körpers gegen transplantiertes Fremdgewebe verantwortlich sind. Auch der Mensch besitzt Histokompatibilitätsgene, die Existenz von Ir-Genen konnte bisher nicht bewiesen werden.

6.1.3. Der Haupthistokompatibilitätskomplex* (MHC)

Die Histokompatibilitätsgene liegen auf einem relativ kurzen Chromosomenabschnitt dicht beisammen. Dieser Abschnitt wird beim Menschen als Haupthistokompatibilitätskomplex bei der Ratte als H-1-Komplex und bei der Maus als H-2-Komplex bezeichnet (13, 133, 144).

Genprodukte von Histokompatibilitätsgenen im H-2-Komplex sind auf fast allen Körperzellen der Maus nachweisbar (6, 114). Die entsprechenden Oberflächenantigene beim Menschen wurden zuerst auf Leukozyten gefunden und deshalb als humane Leukozytenantigene (HLA-Antigene) bezeichnet (34, 35). Inzwischen kann eine große Zahl von HLA-Antigenen mit Hilfe lymphozytotoxischer Methoden unterschieden werden (13, 113). Die HLA-Gene bilden den MHC des Menschen, der auf dem kurzem Arm des Chromosoms Nr.6 liegt (69, 122, 131, 202).

6.1.4. Das HLA-System

6.1.4.1. Klasse-I-Antigene

Innerhalb des MHC auf dem kurzen Arm des Chromosoms Nr.6 liegt je ein HLA-A-, HLA-B- und HLA-C-Locus. Jede Zelle mit

einem diploiden Chromosomensatz besitzt also je zwei dieser Loci, die zusammen einen Haplotyp bilden und gemeinsam vererbt werden. Auf jedem Locus ist eines von mehreren möglichen Allelen vorhanden. Befindet sich auf beiden Chromosomen Nr. 6 einer Zelle das gleiche Allel, dann ist das Individuum homozygot. Entsprechend wird das Individuum als heterozygot bezeichnet, wenn zwei verschiedene Allele vorhanden sind. Die Allele werden mit Zahlen bezeichnet, z.B. HLA-A 2, HLA-B 7, HLA-CW 1.

Die HLA-Antigene, die auf der Oberfläche praktisch aller Körperzellen mit Ausnahme der Erythrozyten nachweisbar sind, setzen sich aus Genprodukten dieser Allele, das sind Glykoproteine mit einem Molekulargewicht von etwa 45000, und dem Beta-2-Mikroglobulin, einem Protein mit einem Molekulargewicht von 12000, zusammen (144). Diese sogenannten Klasse-I-Antigene scheinen für die Erkennung körpereigenen Gewebes von großer Bedeutung zu sein (36, 115).

6.1.4.2. Klasse-II-Antigene

Die Reaktion von Lymphozyten zweier Probanden in der gemischten Lymphozytenkultur (MLC) wird nicht durch die klassischen HLA-Gene gesteuert. In Familienuntersuchungen konnte gezeigt werden, daß die Stimulation, die zu einer Umwandlung der Lymphozyten in Blasten führt, auf Unterschiede in einem weiteren Locus des MHC, dem HLA-D-Locus, zurückzuführen ist (2, 135, 136, 137, 183, 184, 190, 233).

Mit dem HLA-D-Locus möglicherweise identisch, auf jeden Fall aber sehr eng gekoppelt ist der HLA-Dr-Locus, dessen Genprodukte die HLA-Dr-Antigene sind. Diese auch als Klasse-II-Antigene bezeichneten Glykoproteine haben ein Molekulargewicht von 62000 und unterscheiden sich biochemisch von den Klasse-I-Antigenen (117, 199, 225, 232). HLA-Dr-Antigene sind auf B-Lymphozyten, Monozyten, Makrophagen, Langerhans-

schen Zellen und Epithelialzellen nachweisbar (191). In ihrer Funktion entsprechen sie im wesentlichen den Genprodukten der I-Region des Haupthistokompatibilitätskomplexes der Maus. Sie sind an der Kooperation zwischen den verschiedenen Zellen des Immunsystems beteiligt, etwa bei der Steuerung der Antikörpersynthese durch Plasmazellen oder bei der Präsentation von Fremdanigenen durch Makrophagen. Eine Kooperation bei der Immunantwort ist nur dann möglich, wenn die beteiligten Zellen mindestens ein identisches HLA-Dr-Antigen besitzen (12, 104, 105, 144, 220).

7.1.5. Fragestellung

Innerhalb unseres Kontrollkollektivs hatten wir drei hinsichtlich ihrer Immunfunktion unterschiedliche Gruppen gefunden. Die Patienten mit Myokarditis konnten ausnahmslos dem Cluster der Mittelhochreagenten zugeordnet werden. Die wichtige Rolle, welche die Klasse-I- und Klasse-II-Antigene bei der Auslösung und Steuerung von Immunreaktionen spielen, veranlaßte uns zu untersuchen, ob die immunfunktionell differenten Gruppen auch Unterschiede in der Häufigkeitsverteilung der einzelnen HLA-Gene aufzuweisen haben. Angesichts des enormen Polymorphismus des HLA-Systems konnten wir bei den relativ geringen Probandenzahlen unserer Gruppen von vornherein nicht mit statistisch signifikanten Ergebnissen rechnen, sondern allenfalls Hinweise auf mögliche Verknüpfungen zwischen Genen des MHC und immunfunktionellen Parametern erwarten.

Die Klasse-I-Antigene wurden bei Kontrollprobanden und Patienten im Mikrozytotoxizitätsassay nach Terasaki bestimmt (113, 209). Bei einem Teil des Kontrollkollektivs wurden auch die Klasse-II-Antigene festgestellt.

6.2. Mathematische Methoden

Zunächst wurde die prozentuale Verteilung der einzelnen HLA-Gene in den verschiedenen Gruppen berechnet. Zur Bestimmung des relativen Risikos (rR) für die Zugehörigkeit eines Probanden zu einer Gruppe auf Grund des gehäuften Auftretens bestimmter HLA-Gene in dieser Gruppe bedienten wir uns folgender Formel:

$$\text{Relatives Risiko (rR)} =$$

$$\frac{\text{Zahl der positiven Probanden} \times \text{Zahl der negativen Kontrollen}}{\text{Zahl der positiven Kontrollen} \times \text{Zahl der negativen Probanden}}$$

Als Kontrollkollektiv diente bei der Patientengruppe das gesamte Normalprobandenkollektiv, während bei der Untersuchung der drei Cluster jeweils die beiden anderen Cluster gemeinsam als Kontrollgruppe verwendet wurden.

In unserer Untersuchung war das relative Risiko ein Maß für die Stärke der Assoziation eines HLA-Gens zu einer der Probanden- bzw. Patientengruppen. Allgemein spricht man von einer positiven Assoziation, wenn das relative Risiko Werte größer/gleich 1 annimmt, von einer negativen Assoziation bei einem Wert kleiner 1. Eine biologische Signifikanz wird bei einem rR-Wert größer/gleich 2 angenommen.

Anschließend wurde geprüft, ob auch Kombinationen der innerhalb einer Gruppe biologisch signifikant vermehrten HLA-Gene bei Angehörigen dieser Gruppe gehäuft vorhanden waren. Auch für diese Genkombinationen wurden prozentuale Häufigkeiten in jeder der Gruppen und das relative Risiko für die Zugehörigkeit zu einer bestimmten Gruppe berechnet. Es folgte ein Vergleich zwischen den drei Kontrollclustern untereinander sowie zwischen den Clustern und der Patientengruppe hinsichtlich der biologischen signifikant vermehrten HLA-

Gene und Genkombinationen.

Mit dem "exakten Fisher-Test" (62) wurde die mathematische Signifikanz für die biologisch signifikant vermehrten Einzelgene überprüft. Bei unserer, angesichts des Polymorphismus des HLA-Systems relativ geringen Anzahl von Probanden, übertreffen die mit diesem Verfahren nachgewiesenen mathematischen Signifikanzen in ihrer Aussagekraft kaum die der biologischen Signifikanzen des relativen Risikos. Wegen dieser eingeschränkten Aussagefähigkeit der statistischen Methode versuchten wir, die einzelnen Probanden über ihr individuelles HLA-Muster in die durch die Clusteranalyse definierten Gruppen zu reklassifizieren. Ziel dieses Versuchs war es, festzustellen, ob mit Hilfe genetischer Parameter überzufällig häufig eine richtige Zuordnung der Probanden zu ihrem immunfunktionell definiertem Cluster möglich war (in diesem Fall mehr als 33 % der Probanden).

6.3. Ergebnisse

6.3.1. Kontrollkollektiv

Die prozentuale Verteilung der HLA-Gene im gesamten Kontrollkollektiv geht aus der Tabelle 18, S.96 hervor.

6.3.2. Cluster

6.3.2.1. Cluster 1 (Mittelhochreagenten)

Eine biologische signifikante positive Assoziation zum Cluster 1 zeigten folgende HLA-Gene:

A 28 (rR = 2.8), Aw 30/31 (rR = 4.3), B 12 (rR = 2.0), B 13 (rR = 2.6), B 27 (rR = 2.0), Bw 53 (rR = 4.1), Cw 2 (rR = 4.0), Cw 5 (rR = 2.0) und Cw 6 (rR = 3.8).

Statistisch signifikant ($p < 0.05$) war diese Beziehung für die Gene Aw 30/31 und Bw 53 (siehe Tabelle 19, S.97). Kombinationen von je zwei der oben genannten Gene fanden sich im Cluster 1 in 33 % der Fälle (rR = 12.0), im Cluster

2 in 6 % der Fälle ($rR = 0.34$) und bei keinem Probanden des Clusters 3 ($rR = 0.0$). Im exakten Fisher-Test wurde dieser Trend zur Häufung der Genkombinationen im Cluster 1 bestätigt ($p < 0.005$), wobei die Signifikanz auch in der Yeat-Korrektur erhalten blieb.

40 % der Angehörigen des Clusters 1 konnten auf Grund ihres HLA-Musters richtig reklassifiziert werden.

6.3.2.2. Cluster 2 (Niedrigreagenten)

Für folgende HLA-Gene war das relative Risiko, das die positive Assoziation dieser Gene zum Cluster 2 ausdrückt, biologisch signifikant erhöht:

A 9 ($rR = 2.9$), B 14 ($rR = 4.4$), Bw 15 ($rR = 2.1$), Bw 16 ($rR = 7.0$), Bw 18 ($rR = 2.1$), Bw 22 ($rR = 2.5$) und Bw 37 ($rR = 2.5$) (siehe Tabelle 20, S.98).

Eine statistische Signifikanz dieser Beziehung, die auch in der Yeat-Korrektur erhalten blieb, war für das Gen Bw 16 nachweisbar. Zweierkombinationen der genannten HLA-Gene fanden wir im Cluster 2 in 20 % der Fälle ($rR = 9.7$). Im Cluster 1 traten diese Kombinationen in 6 % der Fälle auf ($rR = 0.4$) und im Cluster 3 überhaupt nicht ($rR = 0.0$). Das gehäufte Auftreten dieser Genkombinationen im Cluster 2 war statistisch signifikant ($p < 0.03$).

50 % der Angehörigen des Clusters 2 konnten auf Grund ihrer HLA-Gene richtig reklassifiziert werden.

6.3.2.3. Cluster 3 (Hochreagenten)

Eine positive Assoziation zum Hochreagentencluster 3 ergab die Berechnung des relativen Risikos für die folgenden HLA-Gene:

B 5 ($rR = 3.2$), B 8 ($rR = 5.0$), B 13 ($rR = 2.1$), BW 21 ($rR = 3.4$), Cw 1 ($rR = 3.4$) und Cw 7 ($rR = 3.3$) (siehe Tabelle 21, S.99).

Die statistische Abstützung dieses Trends im exakten Fisher-

Test gelang für die Gene B 5 ($p < 0.03$) und B 8 ($p < 0.05$). Kombinationen der vermehrt vorkommenden Gene fanden wir in 24 % der Fälle im Cluster 3 ($rR = 21.0$). Dagegen lagen solche Kombinationen bei keinem Probanden der Cluster 1 und 2 vor ($rR = 0.0$). Die statistische Signifikanz dieser Beziehung bleibt auch in der Yeat-Korrektur erhalten. 70 % der Probanden des Clusters 3 konnten in der Reklassifikationsanalyse auf Grund ihrer HLA-Gene richtig der immunfunktionell definierten Hochreagentengruppe 3 zugeordnet werden.

6.3.3. Myokarditis

Die HLA-Gene A 10 ($rR = 2.1$), B 14 ($rR = 2.1$), Bw 15 ($rR = 2.0$), Bw 21 ($rR = 2.4$), Cw 1 ($rR = 4.7$), Cw 2 ($rR = 5.3$) und Cw 6 ($rR = 2.4$) zeigten biologisch signifikante Assoziationen zur Gruppe der Myokarditispatienten (siehe Tabelle 22, S.100). Für das Gen Cw 2 ist dieser Trend auch statistisch signifikant ($p < 0.05$). Kombinationen der im Patientenkollektiv vermehrt vorkommenden Gene fanden sich in 13 % der Fälle, während nur 1 % der Kontrollprobanden eine dieser Kombinationen besaß ($rR = 13.0$). Im exakten Fisher-Test erwies sich dieser Unterschied auch in der Yeat-Korrektur als statistisch signifikant ($p < 0.005$).

Nun stellt sich die Frage, inwieweit die Myokarditisgruppe dem Mittelhochreagentencluster 1, dem alle Patienten zugeordnet wurden, auch immungenetisch ähnlicher ist als den beiden anderen Clustern.

Im Cluster 1 des Kontrollkollektivs waren die Kombinationen der in der Patientengruppe vermehrt vorkommenden Gene in 1 % der Fälle vorhanden, in der pathologischen Gruppe in 13 % der Fälle ($rR = 2.5$). Der Unterschied zwischen Cluster 1 und der Myokarditisgruppe war statistisch nicht signifikant. Im Gegensatz dazu fanden sich statistisch signifikante

Tabelle 18: HLA-Genverteilung (%) im Gesamtkontrollkollektiv
(n = 88)

A 1	25 %	Cw 1	1 %
A 2	45 %	Cw 2	3 %
A 3	32 %	Cw 3	15 %
A 9	20 %	Cw 4	17 %
A 10	7 %	Cw 5	3 %
A 11	11 %	Cw 6	2 %
A 28	6 %	Cw 7	2 %
A 29	11 %	Cw -	95 %
Aw 30	5 %		
A -	41 %	Dr 1	17 %
		Dr 2	20 %
B 5	13 %	Dr 3	25 %
B 7	26 %	Dr 4	29 %
B 8	13 %	Dr 5	35 %
B 12	23 %	Dr 6	15 %
B 13	9 %	Dr 7	23 %
B 14	7 %	Dr 8	1 %
Bw 15	8 %	Dr -	32 %
Bw 16	9 %		
Bw 17	5 %		
Bw 18	8 %		
Bw 21	1 %		
Bw 22	3 %		
B 27	3 %		
Bw 35	22 %		
Bw 37	3 %		
Bw 40	16 %		
Bw 53	1 %		
B -	31 %		

Tabelle 19: HLA-Genverteilung (%) und relatives Risiko (rR)
im Cluster 1 (n = 18)

A 1	22 %	0.8	Cw 1	0 %	0.0
A 2	33 %	0.5	Cw 2	6 %	4.0
A 3	28 %	0.5	Cw 3	17 %	1.2
A 9	22 %	1.1	Cw 4	28 %	1.7
A 10	6 %	0.8	Cw 5	6 %	2.0
A 11	11 %	1.0	Cw 6	6 %	3.8
A 28	11 %	2.8	Cw 7	0 %	0.0
A 29	11 %	1.6	Cw -	89 %	1.1
Aw 30	11 %	4.3			
A -	44 %	1.2	Dr 1	10 %	0.6
			Dr 2	10 %	0.5
B 5	0 %	0.0	Dr 3	36 %	1.9
B 7	28 %	1.1	Dr 4	20 %	0.5
B 8	11 %	0.8	Dr 5	40 %	1.4
B 12	33 %	2.0	Dr 6	10 %	0.7
B 13	17 %	2.6	Dr 7	20 %	1.2
B 14	6 %	0.7	Dr 8	0 %	0.0
Bw 15	6 %	0.7	Dr -	50 %	1.9
Bw 16	0 %	0.0			
Bw 17	6 %	1.3			
Bw 18	6 %	0.6			
Bw 21	0 %	0.0			
Bw 22	0 %	0.0			
B 27	6 %	2.0			
Bw 35	22 %	1.0			
Bw 37	0 %	0.0			
Bw 40	17 %	1.1			
Bw 53	5 %	4.1			
B -	39 %	1.6			

Tabelle 20: HLA-Genverteilung (%) und relatives Risiko (rR)
im Cluster 2 (n = 49).

A 1	22 %	0.7	Cw 1	0 %	0.0
A 2	49 %	1.4	Cw 2	4 %	1.0
A 3	35 %	1.4	Cw 3	12 %	0.6
A 9	27 %	2.5	Cw 4	25 %	1.8
A 10	9 %	1.6	Cw 5	2 %	0.5
A 11	11 %	0.5	Cw 6	2 %	0.8
A 28	4 %	0.9	Cw 7	2 %	0.8
A 29	8 %	1.1	Cw -	97 %	0.7
Aw 30	2 %	0.3			
A -	37 %	0.6	Dr 1	15 %	0.8
			Dr 2	18 %	1.0
B 5	12 %	1.0	Dr 3	21 %	0.7
B 7	25 %	0.8	Dr 4	35 %	1.5
B 8	6 %	0.2	Dr 5	27 %	0.5
B 12	25 %	1.2	Dr 6	15 %	0.9
B 13	4 %	0.2	Dr 7	27 %	1.5
B 14	10 %	4.4	Dr 8	3 %	0.8
Bw 15	10 %	2.1	Dr -	41 %	2.0
Bw 16	16 %	7.0			
Bw 17	4 %	0.8			
Bw 18	10 %	2.1			
Bw 21	0 %	0.0			
Bw 22	6 %	2.5			
B 27	4 %	1.6			
Bw 35	18 %	0.7			
Bw 37	6 %	2.5			
Bw 40	14 %	0.8			
Bw 53	0 %	0.0			
B -	29 %	0.8			

Tabelle 21: HLA-Genverteilung (%) und relatives Risiko (rR)
im Cluster 3 (n = 21)

A 1	33 %	1.7	Cw 1	5 %	3.4
A 2	48 %	1.1	Cw 2	0 %	0.0
A 3	29 %	0.8	Cw 3	19 %	1.6
A 9	5 %	0.6	Cw 4	5 %	0.1
A 10	5 %	0.6	Cw 5	5 %	1.6
A 11	19 %	1.8	Cw 6	0 %	0.0
A 28	5 %	0.8	Cw 7	5 %	3.3
A 29	5 %	0.5	Cw -	95 %	1.0
Aw 30	5 %	1.1			
A -	48 %	1.4	Dr 1	27 %	1.9
			Dr 2	27 %	1.6
B 5	24 %	3.2	Dr 3	20 %	0.7
B 7	29 %	1.2	Dr 4	27 %	0.9
B 8	29 %	5.0	Dr 5	47 %	1.8
B 12	10 %	0.3	Dr 6	20 %	1.3
B 13	14 %	2.1	Dr 7	13 %	0.5
B 14	0 %	0.0	Dr 8	0 %	0.0
Bw 15	5 %	0.5	Dr -	14 %	0.3
Bw 16	0 %	0.0			
Bw 17	5 %	1.1			
Bw 18	5 %	0.5			
Bw 21	5 %	0.5			
Bw 22	0 %	0.0			
B 27	0 %	0.0			
Bw 35	29 %	1.7			
Bw 37	0 %	0.0			
Bw 40	19 %	1.3			
Bw 53	0 %	0.0			
B -	29 %	0.9			

Tabelle 22: HLA-Genverteilung (%) und relatives Risiko (rR)
bei Patienten mit Myokarditis (n = 38)

A 1	21 %	0.9	Cw 1	3 %	4.7
A 2	45 %	1.0	Cw 2	16 %	5.3
A 3	29 %	1.2	Cw 3	5 %	0.3
A 9	21 %	1.0	Cw 4	16 %	0.7
A 10	13 %	2.1	Cw 5	0 %	0.0
A 11	13 %	0.5	Cw 6	5 %	2.4
A 28	5 %	1.0	Cw 7	3 %	1.2
A 29	10 %	0.8	Cw -	89 %	0.4
Aw 30	3 %	0.6			
A -	42 %	1.2			
B 5	16 %	1.3			
B 7	27 %	0.9			
B 8	16 %	1.3			
B 12	18 %	0.8			
B 13	5 %	0.6			
B 14	13 %	2.1			
Bw 15	13 %	2.0			
Bw 16	13 %	1.5			
Bw 17	5 %	0.6			
Bw 18	0 %	0.0			
Bw 21	3 %	2.4			
Bw 22	3 %	0.8			
B 27	5 %	1.6			
Bw 35	16 %	0.7			
Bw 37	3 %	0.8			
Bw 40	13 %	0.8			
Bw 53	0 %	0.0			
B -	32 %	1.0			

Unterschiede ($p < 0.005$) zwischen der Patientengruppe und den Clustern 2 und 3, wo die entsprechenden Genkombinationen nicht vorkamen ($rR = 11.0$). Der Unterschied bleibt auch in der Yeat-Korrektur signifikant.

6.4. Diskussion

Wie schon auf Grund des relativ geringen Stichprobenumfangs erwartet, konnte eine statistisch signifikante Häufung einzelner HLA-Gene in den Kontrollclustern bzw. im Patientenkollektiv nur in wenigen Fällen gefunden werden, obwohl die Berechnung des relativen Risikos eine biologisch signifikante Vermehrung einer Reihe von Genen in den einzelnen Gruppen anzeigt.

Dagegen unterschieden sich alle drei Cluster deutlich voneinander, wenn man die Häufigkeiten von Kombinationen der biologisch signifikant vermehrten HLA-Gene verglich. Hier waren die Differenzen sowohl biologisch ($rR = 2.0$) wie auch statistisch signifikant ($p < 0.05$). Auf der Grundlage der Genkombinationen unterscheiden sich die immunfunktionell definierten Cluster also auch in genetischen Parametern. Allerdings bestanden solche genetischen Unterschiede nur hinsichtlich der HLA-A-, HLA-B- und HLA-C-Gene. Keines der HLA-Dr-Gene ließ eine Häufung in einem der drei Cluster erkennen.

Zur Überprüfung dieser Ergebnisse führten wir eine Reklassifikationsanalyse durch. Bei dieser computergestützten Methode wurde versucht, die Einzelprobanden anhand ihres HLA-Musters ihren immunfunktionellen Gruppen zuzuordnen. Dies gelang in 53 % der Fälle, während nach der Zufallswahrscheinlichkeit lediglich eine korrekte Reklassifizierung in 33 % der Fälle zu erwarten war. Für die einzelnen Cluster wurden mit unterschiedlicher Häufigkeit korrekte Reklassifi-

kationen erzielt: Cluster 1 (Mittelhochreagenten) 40 %, Cluster 2 (Niedrigreagenten) 50 % und Cluster 3 (Hochreagenten) 70 % der Probanden.

Wie schon bei der Analyse der immunfunktionellen Parameter ließ sich der Cluster 3 auch immungenetisch von den beiden anderen Clustern am deutlichsten unterscheiden.

Die Genkombinationen unserer Myokarditispatienten waren im Mittelhochreagentcluster 1 deutlich häufiger vertreten als in den beiden anderen Kontrollclustern. Das bedeutet, daß die Patienten sowohl immunfunktionell wie auch immungenetisch am ehesten dem Cluster 1 angehören. Die bereits diskutierte Rolle dieses Clusters als Reservoir für autoaggressive Myokarderkrankungen wird durch diesen Befund nochmals unterstrichen.

Die Ergebnisse der verwendeten mathematischen Methoden und der Reklassifikationsanalyse lassen wohl die Hypothese zu, daß das unterschiedliche immunfunktionelle Verhalten gesunder Probanden wenigstens teilweise von einer unterschiedlichen Genzusammensetzung des Haupthistokompatibilitätskomplexes abhängig sein könnte, wobei weniger die vorhandenen Einzelgene als vielmehr bestimmte Kombinationen einen Einfluß auf die lymphozytäre Reaktionsbereitschaft zu besitzen scheinen. Dieser Einfluß dürfte indirekt über die Expression der Genprodukte, also der HLA-Antigene auf der Oberfläche immunkompetenter Zellen wirksam werden (36, 42, 115, 145).

Die HLA-Dr-Gene sind nach unseren Ergebnissen in den immunfunktionell unterschiedlichen Gruppen annähernd gleich verteilt. Diese Gene bzw. ihre Genprodukte dürften somit hinsichtlich der Stärke von Immunreaktionen eine im Vergleich zu den Genen der HLA-A-, HLA-B- und HLA-C-Loci und den Klasse-I-Antigene nur untergeordnete Rolle spielen.

7. Zusammenfassung:

Bei 44 Patienten mit Myokarditis und 88 gesunden Kontrollprobanden wurden lymphozytäre Reaktionen durch Stimulation mit Mitogenen und Antigenen, Suppressorzellaktivität, T-Zellsubpopulationen und HLA-Muster bestimmt.

Die Suppressorzellaktivität der Patientengruppe war statistisch signifikant niedriger als die des Kontrollkollektivs, während die übrigen Parameter keine wesentlichen Unterschiede zwischen Patienten und Kontrollen zeigten.

Im nächsten Schritt der Auswertung wurden alle Daten der Normalprobanden einer Multivarianzanalyse unterzogen. Mit Hilfe dieser Clusteranalyse fanden wir innerhalb des Kontrollkollektivs drei Gruppen von Probanden, die sich hinsichtlich ihrer lymphozytären Reaktion auf mitogene und antigene Stimulation in vitro deutlich voneinander unterschieden. Die Gruppe 1 umfaßte 18 Personen, deren Lymphozyten mittelhoch reagierten, die Gruppe 2 (n = 49) zeigte eine niedrige und die Probanden der Gruppe 3 (n = 21) eine hohe lymphozytäre Reaktion. Dagegen waren keine signifikanten Differenzen in der Suppressorzellaktivität und bei den T-Zellsubpopulationen zwischen den Clustern nachweisbar. Diese Ergebnisse deuten auf eine funktionelle Ursache für die unterschiedlichen Reaktionsmuster hin.

Alle Patienten mit Myokarditis konnten in der Clusteranalyse der Gruppe 1 zugeordnet werden. Die gesunden Probanden der Gruppe 1, insbesondere jene, die eine niedrige Suppressorzellaktivität aufweisen, könnten somit ein Risikokollektiv für die Myokarditis bilden.

In den drei Clustern fanden wir biologisch signifikante Vermehrungen einzelner HLA-Gene sowie von Genkombinationen. Die Reklassifikation der Probanden in ihre immunfunktionell

definierten Cluster gelang anhand ihres HLA-Musters in 40 bis 70 Prozent der Fälle. Auch hinsichtlich der genetischen Parameter war die Patientengruppe dem Cluster 1 des Kontrollkollektivs am ähnlichsten, was als Hinweis auf eine mögliche genetische Determination der lymphozytären Reaktion angesehen werden kann.

8. LITERATURVERZEICHNIS

1. Alper C.A., Rosen F.S.: Genetics of the complement system.
Adv. Human. Genet. 7, 141 - 188 (1976)
2. Amos D.B., Yunis E.J.: A new interpretation of the major histocompatibility gene complexes of man and mouse.
Cell. Immunol. 2, 517 - 520 (1972)
3. Andersson J., Möller G., Sjöberg O.: B-lymphocytes can be stimulated by concanavalin A in the presence of humoral factors released by T-cells.
Eur. J. Immunol. 2, 99 - 101 (1972)
4. Armerding D., Katz D.H., Benacerraf B.: Immune response genes in inbred rats. III Segregation studies of the GT and GA genes and their linkage to the major histocompatibility locus.
Immunogenet. 1, 340 - 351 (1974)
5. Ault K.A., Towle M.: Human B-lymphocyte subsets. I IgG-bearing B cell response to Pokeweed Mitogen.
J. Exp. Med. 153, 339 (1981)
6. Bach F.H., Widmer M.B., Bach M.L., Klein J.: Serologically defined components of the major histocompatibility complex in mouse.
J. Exp. Med. 136, 1430 - 1444 (1972)
7. Bach J.F., Dardenne M.: Studies on the thymus products. II Demonstration and characterization of a circulating thymic hormone.
Immunology 25, 353 - 366 (1973)
8. Bach M.A., Bach J.F.: The use of monoclonal anti-T-cell antibodies to study T cell imbalances in human diseases.
Clin. Exp. Immunol. 45, 449 - 456 (1981)

9. Begemann H., Rastetter J., Kaboth W.: Klinische Hämatologie
Georg Thieme Verlag, Stuttgart (1975)
10. Begemann M.: Das HLA-System des Menschen
Med. Klinik 77, 436 - 445 (1982)
11. Benacerraf B.: Role of the MHC gene products in immune regulation.
Science 212, 1229 - 1238 (1981)
12. Bender K.: Immunglobuline: I Genetik der Antikörperbildung. In: Handbuch der Humangenetik (Becker P.E. ed.)
Band I/3, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 223 -243, (1975)
13. Bender K.: Das HLA-System
Biotest, Frankfurt (1983)
14. Brennink J.R., Doherty P.C.: The response to H-2-different virus-infected cells is mediated by long-lived T-lymphocytes and is diminished by prior virus priming in a syngeneic environment.
Cell. Immunol. 61, 220 - 224 (1981)
15. Bergholtz B.O., Thorsby E.: Macrophage-dependent response of immune human T-lymphocytes to PPD in vitro.
Scand. J. Immunol. 6, 779 -786 (1977)
16. Berke G., Amos D.B.: Mechanism of lymphocyte-mediated cytolysis. The LMC cycle and its role in transplantation immunity.
Transplant. Rev. 17, 71 - 107 (1973)
17. Bluestein H.G., Green I., Benacerraf B.: Specific immune response genes of the guinea pig. I Dominant genetic

control of immune responsiveness to copolymers of L-glutamic acid and L-alanine and L-glutamic acid and L-tyrosine.

J. Exp. Med. 134, 458 - 470 (1971)

18. Bolte H.D., Schutlhei P.: Immunological results in myocardial diseases.

Postgrad. Med. J. 54, 500 - 503 (1978)

19. Bolte H.D., Schulthei P., Cyran J., Goss F.: Binding of immunoglobulins in the myocardium (biopsies). In: Myocardial biopsy-diagnostic significance (Bolte H.D. ed.)

Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 85 - 96 (1980)

20. Bresnihan B., Jasin H.E.: Suppressor function of peripheral blood mononuclear cells in normal individual and in patients with systemic lupus erythematosus.

J. Clin. Invest. 59, 106 - 116 (1977)

21. Brittinger G., König E., Cohnen G., Aberle H.G.: Lysosomale Enzyme in Lymphozyten. I Lymphoretikuläre Erkrankungen: Vergleich des Enzymgehalts (saure Phosphatase, Beta-Glucuronidase) unstimulierter Blutlymphozyten mit der Blastentransformation nach Phytohämagglutinin-Stimulierung in vitro.

Acta Haemat. 44, 205 - 221 (1970)

22. Brittinger G., König E., Aberle H.G., Zimmerschitt E.: Lysosomale Enzyme in Blutlymphozyten von Gesunden und Patienten mit chronischer Lymphadenose bei kurzdauernder unspezifischer Stimulation in vitro.

Schweiz. Med. Wochenschrift 100, 341 - 344 (1970)

23. Brittinger G.: Die Lymphozytenkultur als in vitro Modell

immunologischer Vorgänge. In: Der Lymphozyt (Pietschmann H. ed.)

Verlag der Wiener Medizinischen Akademie, Wien, 297 - 316 (1972)

24. Broff M.D., Jonsen M.E., Geha R.S.: Nature of the immunogenic moiety recognized by human T cell proliferating in response to tetanus toxoid antigen. Eur. J. Immunol. 11, 365 - 371 (1981)
25. Brown R.S., Haynes H.A., Foley H.T., Godwin H.A., Berard C.W., Carbone P.P.: Hodgkin's disease. Immunologic, clinical and histologic features of 50 untreated patients. Ann. Intern. Med. 67, 291 - 302 (1967)
26. Bundschuh., Schneeweiß B.: Immunologie Akademie Verlag, Berlin (1976)
27. Cambridge G., Mac Arthur G.G., Waterson A.P., Godwin J.F., Oakley C.M.: Antibodies to coxsackie B viruses in congestive cardiomyopathy. Br. Heart J. 41, 692 - 696 (1979)
28. Cantor H., Asofsky R.: Paradoxical effects of anti-thymocyte serum on the thymus. Nature 243, 39 (1973)
29. Cantor H., Asofsky R.: Synergy among lymphoid cells mediating the graft-versus-host response. II Synergy in graft-versus-host reactions produced by BALB/c lymphoid cells of differing anatomic origin. J. Exp. Med. 131, 235 - 246 (1970)
30. Cantor H., Boyse E.A.: Functional subclasses of T-lymphocytes bearing different Ly antigens. I The

generation of functionally distinct T-cell subclasses is a differentiative process independent of antigen.

J. Exp. Med. 141, 1376 - 1389 (1975)

31. Cantor H., Simpson E.: Regulation of the immune response by subclasses of T lymphocytes. I Interaction between pre-killer T cells and regulatory T cells obtained from peripheral lymphoid tissues of mice.
Eur. J. Immunol. 5, 330 - 336 (1975)
32. Caraux J., Serrou B., Weigle W.O.: Natural killer activity: Effector cells in purified human T or null cells have different phenotypes defined by monoclonal antibodies.
Cell. Immunol. 74, 404 (1982)
33. Croisier P.S., Broom B.C.: Regulation of human cytotoxic lymphocyte responses. II Suppression by a soluble factor produced by primed lymphocytes.
Immunology 43, 19 (1981)
34. Dausset J.: Leuco-agglutinins. IV Leuco-agglutinins and blood transfusion.
Vox sang. 4, 190 - 198 (1954)
35. Dausset J.: Iso-leuco-anticorps.
Acta haemat. 20, 156 - 166 (1958)
36. Dausset J.: The major histocompatibility complex in man. Past, present and future concepts.
Science 213, 1469 - 1474 (1981)
37. David J.R.: Lymphocyte mediators and cellular hypersensitivity.
New Engl. J. Med.: 288, 143 - 149 (1973)

38. Davies A.J.S., Leuchars E., Wallis V., Koller P.C.: The mitotic response of thymus derived cells to antigenetic stimulus.
Transplantation 4, 438 - 451 (1966)
39. Davies A.J.S.: Thymus and cellular basis of immunity.
Transplant. Rev. 1, 43 - 91 (1969)
40. Day N.K., Good R.A.: Biological amplification systems in immunology
Plenum Press, New York (1977)
41. De Vries R.R.P., Kreeftenberg H.G., Loggen H.G., Rood J.J. van : In vitro immune responsiveness to vaccinia virus and HLA.
New Engl. J. Med. 297, 692 - 696 (1977)
42. Dickmeis E., Soeberg B., Svjegaard A.: Human cell-mediated cytotoxicity against modified target cells is restricted by HLA.
Nature 270, 526 - 528 (1977)
43. Dorf M.E., Balner H., Benaccerraf B.: Mapping of the immune response genes in the major histocompatibility complex of the rhesus monkey.
J. Exp. Med. 142, 673 - 693 (1975)
44. Dorf M.E., Stimpfling J.H., Benacerraf B.: Requirement for two H-2 complex Ir genes for the immune response to the L-Glu, L-Lys, L-Phe terpolymer.
J. Exp. Med. 141, 1459 - 1463 (1975)
45. Dorr-Burns F., Marrack P.C., Kappler J.W., Janeway C.A.: Functional heterogeneity among T-derived lymphocytes of the mouse. IV Nature of spontaneously induced suppressor cells.

J. Immunol. 114, 1345 - 1347 (1975)

46. Downey H., Mc Kinley C.A.: Acute lymphadenosis compared with acute lymphatic leukemia.
Arch. Intern. Med. 32, 82 - 112 (1923)
47. Dubos R.J., Dubos J.P.: The white plague; tuberculsis, man and society.
Little, Brown, Boston (1952)
48. Dumonde D.C., Wolstencroft R.A., Panayi G.S., Matten M., Morles J., Howson W.T.: "Lymphokines": Non-antibody mediators of cellular immunity generated by lymphocyte activation.
Nature 224, 38 - 42 (1969)
49. Dutton R.W.: Inhibitory and stimulated effects of concanavalin A on the response of mouse spleen cell suspension to antigen.
J. Exp. Med. 136, 1445 - 1460 (1972)
50. Eckstein R.: Die zelluläre Immunität bei chronischer lymphatischer Leukämie und Lymphogranulomatose im Vergleich zu Normalpersonen - eine lymphozytenkinetische Untersuchung.
Inauguraldissertation, München (1978)
51. Eckstein R., Mempel W., Bolte H.D.: Suppressorzellaktivität bei Viruskarditis und kongestiver Kardiomyopathie.
Z. Kardiol. 70, 287 (1981)
52. Eckstein R., Mempel W., Bolte H.D.: Die Bedeutung niedriger Suppressorzellaktivität für die Pathogenese von Myokarditis und kongestiver Kardiomyopathie.
Z. Kardiol. 70, 628 (1981)

53. Eckstein R., Mempel W., Bolte H.D.: Reduced suppressor cell activity in congestive cardiomyopathy and in myocarditis.
Circulation 65, 1224 - 1229 (1982)
54. Eckstein R., Mempel W., Heim M.U., Bolte H.D.: Beziehung zwischen HLA-Genen und niedriger Suppressorzellaktivität bei Patienten mit Myokarditis und kongestiver Kardiomyopathie. In: Forschungsergebnisse der Transfusionsmedizin und Immunhämatologie. (Nagel V., Stangel W. eds.), Band 8, Medicus Verlag, Berlin, 559 - 566 (1983)
55. Eckstein R., Mempel W., Heim M.U., Bolte H.D.: The role of human leukocyte antigen genes and low suppressor cell activity in the pathogenesis of myocarditis and dilated cardiomyopathy. In: Viral Heart Disease (Bolte H.D. ed.)
Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 150 - 161 (1984)
56. Eckstein R., Heim M.U., Huhn D., Schneider B., Müller R., Peltz F., Mempel W.: Cluster of healthy persons with different immune function and their relationship to genes of the major histocompatibility complex.
Abstractbook "18th Congress of the International Society of Blood Transfusion", S. Karger Verlag, Basel, 155 (1984)
57. Eckstein R., Huhn D., Schneider B., Heim M.U., Peltz F., Müller R., Edlmann M., Löhr G., Mempel W.: Beeinflussung immunfunktioneller Parameter bei Histiozytose-X durch Thymostimulin.
Arzneim. Forschung 35, 155 - 162 (1985)
58. Eckstein R.: Immunologische In-vitro-Untersuchungen bei

Gesunden und vier verschiedenen Krankheitsgruppen.
Habilitationsschrift (1985)

59. Eichmann K.: Idiotyp suppression. II Amplification of a suppressor T cell with anti-idiotypic activity.
Eur. J. Immunol. 5, 511 - 517 (1975)
60. Ellner J.J., Schachter B.Z., Bhe F.T.: Tuberculin response of lymphocytes from human skintest non reactors; evidence for in vitro primary sensitization of T lymphocytes.
Cell. Immunol. 45, 213 - 220 (1979)
61. Elves M.W.: The lymphocytes.
Lloyd Luke, London (1966)
62. Fahrmeier L., Häußler W., Tutz G.: Diskriminanzanalyse
In: Multivariate statistische Verfahren (Fahrmeier L., Hamerle A. eds.)
Walter de Gruyter, Berlin, New York, 301 ff (1981)
63. Fenoglio J.J. jr., Ursell P.C., Kellon C.F., Drusin R.C., Weiss M.B.: Diagnosis and classification of myocarditis by endocardial biopsie.
New Engl. J. Med. 6, 12 - 18 (1983)
64. Fink U.: Die Rosettenformation - ein Marker thymusabhängiger Lymphozyten beim Menschen.
Habilitationsschrift, München (1975)
65. Folch H., Waksman B.H.: Regulation of lymphocyte response in vitro. V Suppressor activity of adherent and non-adherent rat lymphoid cells.
Cell. Immunol. 9, 12 - 24 (1973)
66. Forsgren A., Sjöquist J.: "Protein A" from S. aureus. I

Pseudo-immune reaction with human gammaglobulin.

J. Immunol. 97, 822 - 827 (1966)

67. Forsgren A., Svedjelund A., Wigzell H.: Lymphocyte stimulation by protein A of staphylococcus aureus.
Eur. J. Immunol. 6, 207 - 213 (1976)

68. Fowles R.E., Bieber C.P., Stinson E.B.: Defective in vitro suppressor cell function in idiopathic congestive cardiomyopathy.
Circulation 59, 483 - 491 (1979)

69. Francke U., Pellegrino M.A.: Assignment of the major histocompatibility complex to a region of the short arm of human chromosome 6.
Proc. Nat. Acad. Sci. USA 74, 1147 - 1151 (1977)

70. Fudenberg H.H.: Genetically determined immune deficiency as the predisposing cause of "autoimmunity" and lymphoid neoplasia.
Am. J. Med. 51, 295 - 298 (1971)

71. Fudenberg H.H., Stites D.P., Caldwell J.L., Wells J.V. (eds.): Basic and clinical immunology.
Lange Medical Publications, Los Altos, California (1978)

72. Gathings W.E., Lawton A.R., Cooper M.D.: Immunofluorescent studies of the development of pre-B-cells, B-lymphocytes and immunoglobulin isotype diversity in humans.
Eur. J. Immunol. 7, 804 (1977)

73. Geha R.S., Rosen F.S., Merler E.: Unresponsiveness of human B-lymphocytes to phytohaemagglutinin.
Nature 248, 246 - 428 (1974)

74. Geha R.S., Schneeberger E., Rosen F.S., Merler E.:
Interaction of human thymus - Derived and non-thymus-
derived lymphocytes in vitro. Induction of Proliferation
and antibody synthesis in B lymphocytes by a soluble
factor released from antigen-stimulated T lymphocytes.
J. Exp. Med 138, 1230 (1973)
75. Gershon R.K., Kondo K.: Cell interactions in the
induction of tolerance: The role of thymic lymphocytes.
Immunol. 18, 723 - 738 (1970)
76. Gershon R.K., Gervy J., Waksman B.H.: Suppressive
effects of in vivo immunization on PHA responses in
vitro.
J. Immunol. 112, 215 - 222 (1974)
77. Glick B., Chang T.G., Jaap R.G.: The Bursa of Fabricius
and antibody production.
Poultry Sci. 35, 224 - 225 (1956)
78. Goudie R.B., Macfarlane B.S., Lindsay M.K.: Horning of
lymphocytes to non lymphoid tissues.
Lancet 1, 292 - 293 (1974)
79. Gowen J.W.: Genetic effects in non-specific resistance
to infectious disease.
Bacteriol. Rev. 24, 192 - 200 (1960)
80. Graziano K.D., Ruckdeschel J.C., Mardiney M.R. jr.:
Cell-associated immunity to measles (rubeola). The
demonstration of in vitro lymphocyte tritiated thymidine
incorporation in response to measles complement fixation
antigen.
Cell. Immunol. 15, 347 - 359 (1975)
81. Greaves M.F., Owen J.J.T., Raff M.C.: T and B

lymphocytes.

Excerpta Medica, Amsterdam (1973)

82. Greaves M.F., Janossy G., Doenhoff W.: Activation of human T and B lymphocytes by polyclonal mitogens.
Nature 248, 698 - 701 (1974)
83. Greenberg A.H., Hudson L., Shen L., Roitt I.M.: The identity of cytotoxic cells.
Nature 242, 111 - 113 (1973)
84. Greenberg L.J., Gray E.D., Yunis E.J.: Association of HL-A 5 and immune responsiveness in vitro to streptococcal antigens.
J. Exp. Med. 141, 935 - 943 (1975)
85. Günther E., Rüde E., Stark O.: Antibody response in rats to synthetic polypeptide (T,G)-A-L genetically linked to the major histocompatibility system.
J. Immunol. 2, 151 - 155 (1972)
86. Grossi C.E., Webb S.R., Zicca A., Lydyard P.M., Moretta L., Mingari M.C., Cooper M.D.: Morphological and histochemical analyses of two human T cell subpopulations bearing receptors for IgM or IgG.
J. Exp. Med. 147, 1405 (1978)
87. Mapel A.J., Bablanian R., Cole G.A.: Inductive requirements for the generation of virus-specific T lymphocytes. I The nature of the host-cell-virus interaction that triggers secondary poxvirus-specific cytotoxic T lymphocyte induction.
J. Immunol. 121, 736 - 743 (1978)
88. Hardin J.A., Chused T.M., Steinberg A.D.: Suppressor cells in the graft versus host reaction.

J. Immunol. 111, 650 - 651 (1973)

89. Havemann K., Rubin A.D.: The delayed response of chronic lymphatic leukemia lymphocytes to phytohemagglutinin in vitro.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 127, 668 - 671 (1968)
90. Havemann K., Schmidt M.: Lymphozytenkulturen bei Hodgkinscher Erkrankung. Hinweise für zwei Lymphozytenpopulationen bei unterschiedlicher Reaktion auf Phytohämagglutinin.
Klin. Wochenschrift 46, 31 - 33 (1968)
91. Herbermann R.B.: Lymphoid cells in immune surveillance against malignant transformation. In: Advances in Host Defense Mechanismus (Gallin J.I., Fauci A.S. eds.) Volume 2, Raven Press, New York, 241 - 273 (1983)
92. Hodes R.J., Hathcocks K.S.: In vitro generation of suppressor cell activity: Suppression of in vitro induction of cell-mediated cytotoxicity.
J. Immunol. 116, 167 - 177 (1976)
93. Hodgson H.J.F., Wands J.R., Isselbacher K.J.: Alteration in suppressor cell activity in chronic active hepatitis.
Proc. Nat. Acad. Sci. USA 75, 1549 - 1553 (1978)
94. Huber H., Pathouli C.H., Michlmayr G.: Immunpathologie lymphatischer Systemerkrankungen. In: Lymphozyt und klinischen Immunologie (Theml H., Begemann H eds.) Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 96 - 111, (1975)
95. Huber S.A., Lyden D.C., Lodge P.A.: Immunopathogenesis of experimental Cocksackievirus induced myokarditis: Role of autoimmunity.

Herz 10, 1 - 7 (1985)

96. Humphrey J.H., White R.G.: Immunology of students of medicine.
Blackwell Scientific Publications, Oxford (1970)
97. Hungerford D.A., Donnelly A.J., Nowell P.C., Beck S.: The chromosome constitution of a human phenotypic intersex.
Am. J. Human Genetics 11, 215 - 236 (1959)
98. Ivani K., Murgatroyd L.B., Lydyard P.M.: Bursal origin of bone marrow cells with competence for antibody formation.
Immunology 23, 107 - 111 (1972)
99. Jemsem K.: Investigations of staphylococcal antigen structure, with special reference to a polysaccharide antigen and normally-present antibodies against this antigen.
Thesis, Munksgaard, Copenhagen (1959)
100. Jondal M.: Surface Markers on human B and T lymphocytes. IV Distribution of surface markers on resting and blast-transformed lymphocytes.
Scand. J. Immunol. 3, 739 (1974)
101. Kantor F.S., Ojeda A., Benacerraf B.: Studies on artificial antigens. I Antigenicity of DNP-polylysine and DNP-copolymer of lysine and glutamic acid in guinea pigs.
J. Exp. Med. 117, 55 - 70 (1963)
102. Kato S., Muranaka S., Takakura S., Kimura M., Tsuji K.: HLA-Dr antigens and the rubella-specific immune response in man.
Tissue Antigens 19, 140 - 145 (1982)

103. Katz D.H., Benacerraf B.: The regulatory influence of activated T cells on B cells responses to antigen.
Adv. Immunol. 15, 2 (1972)
104. Katz D.H., Hamaoka T., Benacerraf B.: Cell interactions between histoin-compatible T and B lymphocytes. II: Failure of Physiologic cooperative interactions between T and B lymphocytes from allogeneic donor strains in humoral response to hapten-protein conjugates.
J. Exp. Med. 137, 1405 (1973)
105. Katz D.H., Greaves M., Dorf M.E., Dimuzio H., Benacerraf B.: Cell interactions between histoin-compatible T and B lymphocytes. VII Cooperative response between lymphocytes are controlled by genes in the I region of the H-2 complex.
J. Exp. Med. 141, 263 (1975)
106. Kaufmann H., Pape H.: Clusteranalyse In: Multivariate statistische Verfahren (Fahrmeir L., Hamerle A. eds.) S. 371 ff
Walter de Gruyter, Berlin, New York (1981)
107. Keller R.: Immunologie und Immunpathologie
Georg Thieme Verlag, Stuttgart (1981)
108. Kiessling R., Petranyi G., Kärre K., Jondal M., Tracey D., Wigzell M.: Killer cells: A functional comparison between natural, immune T-cell and antibody-dependent in vitro systems.
J. Exp. Med. 143, 772 (1976)
109. Kilbourne E.D., Wilson C.B., Perrier D.: The induction of gross myocardial lesions by a Coxsackie (Pleurodynia) virus and cortisone.
J. Clin. Invest. 35, 362 - 370 (1956)

110. Kincade P.W., Self K.S., Cooper M.D.: Survival and function of Bursa-derived cells in bursectomized chickens.
Cell. Immunol. 8, 93 - 102 (1973)
111. Kinder H.P., Osius G., Timm J.: Statistik für Biologen und Mediziner
Uni-Text, Friedrich Vieweg & Sohn, Braunschweig, Wiesbaden, 239 - 244 (1982)
112. Kishimoto C.H., Tomioka N., Kawai C.H.: Clinical findings in acute viral myocarditis.
Herz 10, 15 - 20 (1985)
113. Kissmeyer-Nielsen F., Kjerbye E.: Lymphocytotoxic microtechnique. Purification of lymphocytes by flotation.
Histocompatibility Testing 1967. Munksgaard, Kopenhagen, 381 - 383 (1967)
114. Klein J., Park J.M.: Graft versus host reaction across different regions of the H-2 complex of the mouse.
J. Exp. Med. 136, 1430 (1972)
115. Klein J.: Evolution and function of the major histocompatibility system: facts and speculations.
In: The Major Histocompatibility System in Man and Animals (Götze D. ed.)
Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 339 - 378 (1977)
116. Kline I.K., Saphir O.: Chronic pernicious myocarditis.
Am. Heart J. 59, 681 - 697 (1960)
117. Kratzin H., Yang C., Götz H., Pauly E., Kölbel S., Egert G., Thinnies F.P., Wernet P., Altevogt P.,

Hiltschmann N.: Primärstruktur menschlicher
Histokompatibilitätsantigene der Klasse II:
1.Mitteilung: Aminosäuresequenz der N-terminalen 198
Reste der Beta-Kette des HLA-Dw 2,2; Dr 2,2-
Alloantigens.
Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chemie 362, 1665 - 1669
(1981)

118. Koszinowski U., Ertl H.: Lysis mediated by T cells and
restricted by H-2 antigen of target cells infected with
vaccinia virus.
Nature 255, 552 - 54 (1975)
119. Kuhn H.: Differentialdiagnostische Abgrenzung von
entzündlichen Herzmuskelerkrankungen.
Internist 25, 165 - 172 (1984)
120. Kung B.C., Goldstein G., Reinherz E.L., Schlossmann
S.F.: Monoclonal antibodies defining distinctive human
T cell surface antigens.
Science 206, 347 - 349 (1979)
121. Lachmann P.J.: Lymphocyte cooperation
Proc. Roy. Soc. Band 176, London, 425 - 426 (1971)
122. Lamm L.U., Svejgaard A., Kissmeyer-Nielsen F.: PHM₃:
HLA is another linkage in man.
Nature (New Biology) 231, 109 - 110 (1971)
123. Langmann J.: Medizinische Embryologie
Georg Thieme Verlag, (1977)
124. Lin S.P., Cooper A.G., Wortis H.H.: Scanning electronic
microscopy of human T cell and B cell rosettes.
New Engl. J. Med. 289, 548 - 551 (1973)

125. Loor F., Roelants G.E.: B and T cells in immune recognition.
John Wiley & Sons, Chichester (1977)
126. Lydyard P.M., Fanger M.W.: Characteristics and function of Fc-receptors on human lymphocytes.
Immunology 47, 1 (1982)
127. Macdonald T.T.: Immunosuppression caused by antigen feeding. II Suppressor cells mark Peyer's patch B-cell priming to orally administered antigen.
Eur. J. Immunol. 13, 138 - 142 (1983)
128. Maisch B.: Humore immunologische Effektormechanismen bei Perimyokarditis.
Internist 25, 155 - 164 (1984)
129. Maisch B., Bülowius U., Schmier K., Klopff D., Koper D., Sibelis T.H., Kochsiek: Immunological cellular regulator and effector mechanisms in myocarditis.
Herz 10, 8 - 14 (1985)
130. Martin W.J., Maurer P.H., Benacerraf B.: Genetic control of immune responsiveness to a glutamine acid, alanine, tyrosine copolymer in mice. I Linkage of responsiveness to H-2 genotype.
J. Immunol. 107, 715 - 718 (1971)
131. Mayr W.R., Bissbort S., Kömpf J.: Confirmation of the linkage HL-A/PGM₃
Humangenetik 28, 173 - 174 (1975)
132. Mc Michael A., Sasazuki T., Mc Devitt H.O.: The immune response to diphtheria toxoid in humans.
Transplantation Proc. 9, 191 - 194 (1977)

133. Medawar P.B.: Immunity to homologous grafted skin. II
The relationship between the antigens of blood and
skin.
Brit. J. Exp. Path. 27, 15 -24 (1946)
134. Medawar P.B., Simpson.: Thymus-dependent lymphocytes.
Nature 258, 106 - 108 (1975)
135. Mempel W., Albert F., Burger A.: Further evidence for a
seperate MLC-locus.
Tissue Antigens 2, 250 - 254 (1972)
136. Mempel W., Grosse-Wilde H., Baumann P., Netzel B.,
Steinbauer-Rosenthal I., Scholz S., Bertram J., Albert
E.: Population genetics of the MLC-response: Typing for
MLC determinants using homozygous and heterozygous
reference cells.
Transplant. Proc. 5, 1529 - 1538 (1973)
137. Mempel W., Grosse-Wilde H., Albert E., Thierfelder S.:
Atypical MLC reactions in HLA typed related and
unrelated pairs.
Transplant. Proc. 5, 401 - 408 (1973)
138. Herryman C.F., Maurer P.H., Stimpfling J.H.: Unigenic
and mutligenic I region control of the immune responses
of mice to the GAT¹⁰ and Gl 0-GLT terpolymer.
Immunogenetics 2, 441 (1975)
139. Miller C., Trunkey D.: Immunobiology of sepsis In:
Surgical Infections (Flint L.M., Fry D.E. eds.)
Medical Examination Publ. Comp., New York, 8 - 24
(1982)
140. Mizerski J., Chartrand S., Gajlpeczalska K.: Con-A-
induced suppressor cells in man. I Induction and

characterization of suppressor cells.

Immunobiol. 158, 270 - 281 (1981)

141. Möller G., Svehaug S.E.: Specificity of lymphocyte-mediated cytotoxicity induced by in vitro antibody-coated target cells.

Cell. Immunol. 4, 1 - 9 (1972)

142. Möller G., Landwall P.: The polyclonal B-cell-activating property of protein A is not due to its interaction with the Fc part of immunoglobulin receptors.

Scand. J. Immunol. 6, 357 - 366 (1977)

143. Munro A.J., Tausig M.J.: Two genes in the major histocompatibility complex and their relationship to the immune response.

Nature 256, 103 - 106 (1975)

144. Munro A., Bright S.: Products of the major histocompatibility complex and their relationship to the immune response.

Nature 264, 145 - 152 (1976)

145. Munro A., Waldmann H.: Major histocompatibility system and immune response.

Brit. Med. Bull. 34, 253 - 258 (1978)

146. Nelson D.S.: Macrophages and Immunity.

North Holland Publ., Amsterdam (1968)

147. Nippoldt T.B., Mech B., Edwards W.D., Holmes D.R. jr., Reeder G.S., Hertzner G.O., Smith H.C.: Right ventricular endomyocardial biopsy; clinicopathology correlates in 100 consecutive patients.

Mayo Clin. Proc. 57, 407 - 418 (1982)

148. Nowell P.C.: Phytohemagglutinin: An initiator of mitosis in cultures of normal human leukocytes.
Cancer Res. 20, 462 - 467 (1960)
149. Oie M., Tchihashi Y.: Target antigen of vaccinia-infected cells recognized by virus-specific cytotoxic T lymphocytes.
Microbiol. Immunol. 25, 361 - 375 (1981)
150. Olsen E.G.J.: The role of biopsy in the diagnosis of myocarditis.
Herz 10, 21 - 25 (1985)
151. Osler A.C.: Complement: Mechanisms and functions.
Prentice-Hall, Englewood Cliffs, New York (1976)
152. Owen J.J.T., Ritter M.A.: Tissue interaction in the development of thymuslymphocytes.
J. Exp. Med. 129, 431 - 442 (1969)
153. Pappenheim A.: Panoptische Universalfärbung für Blutpräparate
Med. Klin. 32, 1244 (1908)
154. Parillo J.E., Aretz T., Palacios J., Fallon J.T., Block P.C.: The results of transvenous endomyocardial biopsy can frequently be used to diagnose myocardial disease in patients with idiopathic heart failure.
Circulation 69, 93 - 101 (1984)
155. Parrot D.M.V., De Sousa M.A.B.: Thymus dependent and thymus independent populations: origin, migratory patterns and lifespan.
Clin. Exp. Immunolgy 8, 663 - 684 (1971)
156. Peavy D.L., Pierce C.W.: Cell mediated immune responses

in vitro. I Suppression of the generation of cytotoxic lymphocytes by concanavalin A and concanavalin A-activated spleen cells.

J. Exp. Med. 140, 356 - 369 (1974)

157. Pellegrino M.A., Ferrone S., Safford J.W. jr., Hirata A.A., Terasaki P.I., Reisfeld R.A.: Stimulation of lymphocyte transformation by streptococcal type M 1 protein: relationship to HL-A antigens.

J. Immunol. 109, 97 - 109 (1972)

158. Penn I.: Depressed immunity and the development of cancer.

Clin. Exp. Immunol. 46, 459 - 474 (1981)

159. Perlmann P., Nilsson H., Leon M.A.: Inhibition of cytotoxicity of lymphocytes by concanavalin A in vitro. Science 168, 1112 - 1115 (1970)

160. Peter H.H.: The origin of human NK cells. An ontogenetic model derived from studies in patients with immunodeficiencies.

Blut 46, 239 - 248 (1983)

161. Piguet P.F., Vasalli P.: Study of the thymic-derived or -independent nature of mouse spleen cells induced to proliferate in culture by various mitogens and antigens.

Eur. J. Immunol. 3, 477 - 483 (1973)

162. Playfair J.H.L., Purves E.C.: Separate thymus dependent and thymus independent antibody forming cell precursors.

Nature 231, 149 - 151 (1971)

163. Polliak A., Lampen N., Clarkson B.D., De Harven E.,

- Bentwich Z., Kinkel H.G.: Identification of human B and T lymphocytes by scanning electron microscopy.
J. Exp. Med. 138, 607 624 (1973)
164. Rabellino E., Grey H.M.: Immunoglobulins on the surface of lymphocytes. III Bursal origin of surface immunoglobulins on chicken lymphocytes.
J. Immunol. 106, 1418 - 1420 (1971)
165. Raff M.C., Cantor H.: Subpopulations of thymus cells and thymus-derived lymphocytes. In: Progress in Immunology (Amos B. ed.)
Academic Press, New York, 83 - 93 (1971)
166. Rich R.R., Pierce C.W.: Biological expression of lymphocyte activation. II Generation of a population of thymus-derived suppressor lymphocytes.
J. Exp. Med. 137, 649 - 659 (1973)
167. Reinherz E.L., Moretta L., Roper M., Breard J.M., Mingari M.C., Cooper M.D., Schlossmann S.F.: Human T-lymphocyte subpopulations defined by Fc receptors and monoconal antibodies. A comparison.
J. Exp. Med. 151, 969 - 974 (1980)
168. Reinherz E.L., Schlossmann S.F.: The differentiation and function of human T-lymphocytes.
Cell 19, 821 - 827 (1980)
169. Regitz V., Olsen E.G.J., Rudolph W.: Histologisch nachweisbare Myokarditis bei Patienten mit eingeschränkter linksventrikulärer Funktion.
Herz 10, 27 - 35 (1985)
170. Rich R.R., Pierce C.W.: Biological expressions of lymphocyte activation. I Effects of phytomitogens on

antibody synthesis in vitro.

J. Exp. Med. 137, 205 (1973)

171. entspricht 166.

172. Rich R.R., Rich S.: Biological expression of lymphocyte activation: IV Concanavalin A-activated suppressor cells in mouse mixed lymphocyte reactions.

J. Immunol. 114, 1112 - 1114 (1975)

173. Richardson P.J.: King's endomyocardial biotome.

Lancet 1, 660 (1974)

174. Richardson P.J.: Immunosuppressive therapy in the management of biopsy proven acute myocarditis.

Herz 10, 36 - 43 (1985)

175. Roelants G.E.: The regulatory role of macrophages in immune recognition. In: B and T cells in immune recognition (Loor F., Roelants G.E. eds.)

John Wiley & Sons, Chichester, 103 - 125 (1978)

176. Rosen F.S.: Complement: Ontogeny and phylogeny.

Transplant. Proc. 6, 47 - 50 (1974)

177. Rustad P.C.: Pinocytosis

Sci. Americ. 204, 120 - 130 (1961)

178. Rubin A.D., Johnson L.I., Brown S.M.: Lymphocyte proliferation and lymphoproliferative disorders.

Progr. Exp. Tumor Res. 13, 135 - 180 (1970)

179. Ruckdeschel J.C., Graziano K.D., Mardiney M.R. jr.: Additional evidence that the cell-associated immune system is the primary host defense against measles (rubeola).

Cell Immunol. 17, 11 - 18 (1975)

180. Saksela E., Timonen T., Ranki A., Häyry P.:
Morphological and functional characterization of
isolated effector cells responsible for human natural
killer cell line targets.
Immunol. Rev. 44, 71 (1979)
181. Salton M.R.J.: The properties of lysozyme and its
action on microorganisms.
Bacteriol. Rev. 21, 82 - 99 (1957)
182. Sasazuki T., Kohno Y., Iwamoto T., Tanimura N.:
Association between an HLA haplotype and low
responsiveness to tetanus toxoid in man.
Nature 272, 359 - 361 (1978)
183. Schellekens P.T.A., Vriesendorp B., Eijssvoogel V.P.,
Leeuwen A. van, Rood J.J. van, Miggianis V., Ceppellini
R.: Lymphocyte transformation in vitro. II Mixed
lymphocyte culture in relation to leukocyte antigens.
Clin. Exp. Immunol. 6, 241 - 254 (1970)
184. Schellekens P.T.A., Eijssvoogel V.P.: Lymphocyte
transformation in vitro. III Mechanism of stimulation
in the mixed lymphocyte culture.
Clin. Exp. Immunol. 7, 229 - 239 (1970)
185. Schlesinger M.: Anti-theta-antibodies for detecting
thymus dependent lymphocytes in the immune response of
mice to SRBC.
Nature 226, 1245 - 1256 (1970)
186. Schulte Wissermann H., Gardilic S.: Die Rolle des
Thymus in der Entwicklung der Immunkompetenz.
Monatsschrift Kinderheilkunde 129, 378 - 390 (1981)

187. Schwick H.G., Bräuer H.: *Exempla immunologica.*
Behringwerke, Frankfurt (1980)
188. Sell S.: *Immunologie, Immunpathologie und Immunität.*
Verlag Chemie, Weinheim, New York, 198 (1977)
189. Sell S., Gell P.G.H.: *Studies on rabbit lymphocytes in vitro. Stimulation of blast transformation with an antiallotype serum.*
J. Exp. Med. 122, 423 - 440 (1965)
190. Sengar D.P.S., Mickey M.R., Myhre B.A., Chen H.H.,
Terasaki P.I.: *Mixed leukocyte culture response in HLA "identical individuals".*
Transfusion 11, 251 - 257 (1971)
191. Shackelford D.A., Kaufmann J.F., Korman A.J.,
Strominger D.L.: *HLA-Dr-antigens: Structure, separation of subpopulations, gene cloning and function.*
Immunol. Rev. 66, 133 - 187 (1982)
192. Shearer G.M., Mehmon M.I., Weinstein Y., Sela M.:
Regulation of antibody response by cells expressing histamine receptors.
J. Exp. Med. 136, 1302 - 1307 (1972)
193. Shou L., Schwartz S.A., Good R.A.: *Suppressor cell activity after concanavalin A treatment of lymphocytes from normal donors.*
J. Exp. Med. 143, 1100 - 1110 (1976)
194. Simpson E., Cantor H.: *Regulation of the immune response by subclasses of T lymphocytes. II The effect of adult thymectomy upon humoral and cellular responses in mice.*
Eur. J. Immunol. 1, 337 - 343 (1975)

195. Skarnes A.C., Watson D.W.: Antimicrobial factors of normal tissues and fluids.
Bacteriol. Rev. 21, 273 - 294 (1957)
196. Smit J.W., Bloom N.R., van Luyn M., Halie M.R.: Lymphocytes with parallel tubular structures: Morphologically a distinctive subpopulation.
Blut 46, 311 (1983)
197. Smith K.A., Chess L., Mardiney M.R. jr.: The relationship between rubella hemagglutinin inhibition antibody (HIA) and rubella induced in vitro lymphocyte tritiated thymidine incorporation.
Cel. Immunol. 8, 321 - 327 (1973)
198. Smith R.T., Miescher P.A., Good R.A. eds.: Phylogeny of Immunity
Univ. of Florida Press (1966)
199. Snary D., Barnstable C., Bodmer W.F., Goodfellow P., Crumpton M.J.: Human Ia antigens - purification and molecular structure.
Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 41, 379 - 386 (1977)
200. Sobernheim J.F.: Diagnostik der inneren Krankheiten mit vorzüglicher Rücksicht auf pathologische Anatomie.
Hirschwald Verlag, Berlin, 117 - 135 (1837)
201. Solbach W., Röllinghoff M., Wagner H.: Die Rolle von Interleukin-2 bei der Aktivierung von zytotoxischen T-Lymphozyten.
Klin. Wochenschrift 661, 67 - 75 (1983)
202. Someren H. van, Westerveld A., Hagemeijer H., Mees J.R., Meera Khan P., Zaalberg O.B.: Human antigen and

enzyme marker in man - Chinese hamster somatic cell hybrids: Evidence for syntenry between the HL-A, PGM₃, ME and IPO-B loci.

Proc. Nat. Acad. Sci. USA 71, 962 - 965 (1974)

203. Sprent J.: Migration and lifespan of lymphocytes. In: B and T cells in immune recognition (Loor F., Roelants G.E. eds.)

John Wiley & Sons, Chichester, 59 - 82 (1977)

204. Strobe J.D., Paul W.E.: Functional heterogeneity of murine lymphoid cells. III Differential responsiveness of T cells to phytohemagglutinin and concanavalin A as probe for T cell subsets.

J. Immunol. 110, 362 - 375 (1973)

205. Strober S.: Immune function, cell surface characteristics and maturation of B cell subpopulations.

Transplant. Rev. 24, 84 - 112 (1975)

206. Taussig M.J.: T cell factor which can replace T cells in vitro.

Nature 248, 234 (1974)

207. Taussig M.J., Lachmann P.J.: Studies on antigenetic competition. II Abolition of antigenetic competition by antibody against ot tolerance to the dominant antigen: a model for antigenic competition.

Immunology 22, 185 - 197 (1972)

208. Temple A., Loewi G., Davies P., Howard A.: Cytotoxicity of immune guinea-pig cells. II The mechanism of macrophage cytotoxicity.

Immunology 24, 655 - 699 (1973)

209. Terasaki P.I., McClelland J.D.: Microdroplet assay of human serum cytotoxins.
Nature 204, 998 - 1000 (1964)
210. Thiel E.: Monoclonal antibodies against differentiation antigens of lymphopoiesis.
Blut 47, 247 (1983)
211. Thomar R.H., Taylor F.B. jr., Green G.R.: Delayed hypersensitivity to SK-SD: in vitro lymphocyte study with an active component.
J. Immunol. 108, 231 - 235 (1972)
212. Thorbecke G.J., Benacerraf B.: The reticulo-endothelial system and immunological phenomena.
Progr. Allergy 6, 559 - 598 (1962)
213. Timonen T., Ortaldo J.R., Herbermann R.B.: Characteristics of human Large Granular Lymphocytes and relationship to Natural Killer and K cells.
J. Exp. Med. 153, 569 (1981)
214. Timonen T., Saksela E.: Isolation of human NK cells by density gradient centrifugation.
J. Immunol. Methods 36, 285 (1980)
215. Treves A.J., Tal T., Break V., Fuks Z.: Antigen presentation and regulating functions of human monocytes in the in vitro response of lymphocytes against purified protein derivative of tuberculin (PPD).
Eur. J. Immunol. 11, 487 - 492 (1981)
216. t-Test, t-Prüfung: Casio Programm Bibliothek S.111
217. Türk W.: Septische Erkrankungen bei Verkümmerng des

Granulozytensystems.

Wiener Klin. Wochenschrift 20, 157 - 162 (1907)

218. Unanue E.R., Grey H.H., Rabellino E., Campbell P., Schmidtke J.: Immunoglobulins on the surface of lymphocytes. The bone marrow as the main source of lymphocytes with detectable surface bound immunoglobulins. J. Exp. Med. 133, 1188 - 1198 (1971)
219. Valdimarrson H., Agnarsdottir G., Lachmann P.J.: Measles virus receptor on human T-lymphocytes. Nature 255, 554 - 556 (1975)
220. Waldmann H., Munro A.: T-cell dependent mediator in the immune response. Nature 243, 356 - 357 (1973)
221. Waterson A.P.: Virological investigations in congestive cardiomyopathy. Postgrad. Med. J. 54, 505 - 507 (1978)
222. Watson J., Epstein R., Nakoinz I., Ralph P.: The role of humoral factors in the initiation of in vitro primary immune responses: effects of lymphocyte mitogens. J. Immunol. 110, 43 - 52 (1973)
223. Webb D.R.: Studies on the non-specific regulation of immunocomponent cell function. In: Immunopharmacology and the regulation of leukocyte function (Webb D.R. ed.) Marcel Dekker, New York, Volume 19, 143 - 158 (1982)
224. Wedgwood R.G.: Properdin In: Immunological Methods (Achroyd J.F. von, ed.) Blackwell Scientific Publications, Oxford, 25 - 42

(1964)

225. Wernet P.: Human Ia-type alloantigens: methods of detection, aspects of chemistry and biology, markers for disease states.
Transplant. Rev. 30, 271 - 298 (1976)
226. West W.H., Cannon G.B., Kay H.D., Bonnard G.D., Herbermann R.B.: Natural cytotoxic reactivity of human lymphocytes against a myeloid cell line. Characterization of effectors cells.
J. Immunol. 118, 335 (1977)
227. Williams M., Benacerraf B.: Genetic control of thymus derived cell function. I In vitro DNA synthesis response of normal mouse spleen cells stimulated by the mitogens concanavalin A and phytohemagglutinin.
J. Exp. Med. 135, 1279 - 1292 (1972)
228. Wolstencroft R.A., Mathew M., Oates C., Maini R.M., Dumonde D.C.: Lymphocyte mitogenic factor in all mediated immunity. In: The Role of Lymphocytes and Macrophages in the Immunological Response (Dumonde D.C.)
Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 28 - 37 (1971)
229. Wood W.B.: Phagocytosis with particular referenc to encapsulated bacteria.
Bacteriol. Rev. 24, 41 - 49 (1960)
230. Woodruff J.F., Kilbourne E.D.: The influence of quantitated post-weaning undernutrition on Coxsackie B-3 infection of adult mice. I Viral persistance and increased severity of lesions.
J. Infect. Des. 121, 137 - 163 (1970)

231. Woodruff J.F.: Viral myocarditis
Am. J. Pathol. 101, 425 - 479 (1980)
232. Yang C., Kratzin H., Götz H., Thinnies F.P., Kruse T.,
Egert G., Pauly E., Kölbel S., Wernet P., Hilschmann
N.: Primärstruktur der Klasse-II-Antigene:
2.Mitteilung: Aminosäuresequenz der N-terminalen 179
Reste der Alpha-Kette des HLA-Dw 2,2; Dr 2,2-
Alloantigens.
Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. 363, 671 - 676 (1982)
234. Yunis E.J., Amos B.D.: Three closely linked genetic
systems relevant to transplantation.
Proc. Nat. Acad. Sci. USA 68, 3031 - 3035 (1971)
235. Zaleski M., Milgrom F.: Complementary genes controlling
immune response to O-AKR in mice.
J. Immunol. 110, 1238 - 1244 (1973)
236. Zweimann B.: In vitro effects of measles virus on
proliferating human lymphocytes.
J. Immunol. 106, 1154 - 1158 (1971)

Herrn Professor Dr. W. Mempel danke ich für die Überlassung des Themas und für die Möglichkeit, die Einrichtungen des Transfusionszentrums der Medizinischen Klinik III/Klinikum Großhadern zu benutzen.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. Reinhold Eckstein von der Medizinischen Klinik III/Klinikum Großhadern der Universität München für die Unterstützung bei der Planung und Durchführung der Experimente. Durch seine stets freundliche Diskussionsbereitschaft lieferte er mir wesentliche Denkanstöße, die entscheidend zur Erstellung des Gesamtkonzepts und zum schließlichen Gelingen meiner Arbeit beigetragen haben.

Für die hervorragende mathematische Beratung bei der Analyse der Versuchsdaten danke ich Herrn Professor Dr. B. Schneider vom Institut für Biometrie der Medizinischen Hochschule Hannover.

Herrn Professor Dr. H.D. Bolte von der Medizinischen Klinik I/Klinikum Großhadern danke ich für die Überlassung des Patientenkollektivs.

Für die Unterstützung bei den medizinisch-technischen Untersuchungen danke ich insbesondere den Mitarbeiterinnen des Transfusionszentrums der Medizinischen Klinik III/Klinikum Großhadern, Angela Lehmeier, Ursula Mangold und Annette Schleifer.

LEBENS LAUF

Name: Peltz
Vornamen: Friedhelm Heinz Horst
geboren am: 29. Dezember 1953
Geburtsort: Stephanskirchen, Ortsteil Kuglmoos, Kreis
Rosenheim
Eltern: Hanns-Heinrich Peltz
Elfriede Peltz geb. Riemer
Schul Ausbildung: Volksschule in München 1960 - 1964
mathematisches-naturwissenschaftliches
Maria-Theresia-Gymnasium in München
1964 - 1974
Wehrdienst: beim 5./ Gebirgs-Sanitätsbataillon 8 in
Murnau
Studium: Studium der Humanmedizin an der Ludwig-
Maximilians-Universität in München 1979 -
1985: Ärztliche Vorprüfung 1981,
I.Staatsexamen 1982, II.Staatsexamen
1984, III.Staatsexamen 1985.
Approbation: am 30.April 1985
Heirat: am 01.April 1982 mit Anneliese Schleich
beruf. Tätigkeit: seit 01.Dezember 1985 Assistenzarzt im
Deutschen Herzzentrum München, Direktor
Professor Dr. W. Rudolph.





